

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



PARKİNSON HASTALIĞI SIÇAN MODELİNDE
NİKOTİNİN PREMOTOR FAZA ETKİLERİ

Dr. Elif SARICA DAROL

NÖROLOJİ ANABİLİMDALI

2011

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

PARKİNSON HASTALIĞI SIÇAN MODELİNDE
NİKOTİNİN PREMOTOR FAZA ETKİLERİ

Dr. Elif SARICA DAROL
NÖROLOJİ ANABİLİMDALI

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Pervin KUTLUAY İŞERİ

Anabilimdalı Başkanı
Prof. Dr. Sezer ŞENER KOMSUNOĞLU

2011

Kocaeli Üniversitesi HADYEK tarafından onaylanmıştır.

(Proje No: 2009/24, Etik Kurul Onay No: 9/3-2009)

TEŞEKKÜR

*Sayın hocam, tanıştığım ilk andan itibaren bir anne şefkati ve muhabbetini hissettirdiniz. Allah'ın daha çalışkan ve güçlü yarattığı nadide şahsiyetlerden biriyle tanışmak ve çalışmak benim için şerefti. Tüm hayatım boyunca, **Prof. Dr. Sezer Şener Komsuoğlu**'nun talebesi olabilmek gayretiyle...*

*Birçok özür ve teşekkür borçlu olduğum, hayat ve klinik tecrübelerinden her zaman faydalandığım, her başım sıkıştığında kendimi yanında bulduğum, abi-kardeş içtenliğini her zaman hissettiğim Sayın Hocam **Prof. Dr. Hüsnü Efendi**'ye,*

*Bilgi ve tecrübelerini cömertçe benimle paylaşan tez danışmanım, eğitimim süresince her zaman 'abla' gibi yakın, 'hoca' gibi saygın, çalışkanlığına ve öğreticiliğine hayran kaldığım ve örnek aldığım sevgili hocam **Doç. Dr. Pervin Kutluay İşeri**'ye,*

*Tezimi hazırlama ve yazma aşamalarında her zaman yanımda olan ve tüm tecrübesini benimle paylaşan sevgili hocam **Yrd. Doç. Dr. Ayşe Karson**'a ,*

*Eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini paylaştıkları için sevgili hocalarım **Doç. Dr. Hamit Macit Selekler** ve **Yrd. Doç. Dr. Ayşe Kutlu**'ya,*

*Tezin en zor aşamalarından birini yerine getiren, maalesef hiç yardımcı olamadığım halde içtenlik ve samimiyetle histolojik incelemeleri yapan sayın hocam **Yrd. Doç. Dr. Sibel Köktürk** e,*

*Ve son olarak eğitimim süresince desteğini her zaman arkamda hissettiğim sevgili eşim **Av. Fethi Darol**'a, hafta sonları DETAB'ın bahçesinde beni bekleyen (4 yaşında) oğlum **Ömer Faruk Darol**'a ve maddi manevi desteğini esirgemeyen **AİLEM**'e sonsuz teşekkür ederim.....*

Dr. Elif Sarıca DAROL

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
GRAFİKLER DİZİNİ.....	VII
RESİMLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	X
1.AMAÇ VE KAPSAM.....	01
2.GENEL BİLGİLER.....	04
2.1. Parkinson hastalığı.....	04
2.2. Epidemiyoloji.....	04
2.3. Etiyoloji.....	05
2.4. Klinik Bulgular.....	06
2.5. Parkinson Hastalığında Tanı.....	14
2.6. Patoloji.....	16
2.7. Tedavi.....	23
2.8. Parkinson Hastalığında Aminlerin Yeri...	25
2.8.1. Dopamin.....	25
2.8.2. Nikotin.....	31
2.9.PH Deneysel Hayvan Modelleri.....	37
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. Deney Prosedürü.....	39
3.2. Cerrahi Girişimler.....	42
3.3. Lokomasyon ve Davranış Değerlendirme..	44

3.4. Histolojik Değerlendirme.....	48
3.5. İstatistiksel Analizler.....	54
4.BULGULAR.....	55
4.1. Su Tüketimi.....	55
4.2. Lokomotor Aktivite.....	56
4.3. Davranış Özellikleri.....	58
4.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	60
5.TARTIŞMA.....	69
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	75
7.ÖZET.....	77
8.ABSTRACT.....	78
9.KAYNAKLAR.....	79

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

(PH)	Parkinson Hastalığı
(6-OHDA)	6-hidroksi dopamin
(UKBB)	United Kingdom Brain Bank
(VTA)	Ventral tegmental alan
(SN)	Substantia nigra
(REM)	Hızlı göz hareketleri
(RDB)	REM uykusu davranış bozukluğu
(SNCA)	Alfa-sinüklein geni
(PCR)	Polimerize zincir reaksiyon
(BT)	Bilgisayarlı tomografi
(MRG)	Manyetik rezonans görüntüleme
(F-dopa)	6-[¹⁸ F]-fluorodopa
(PET)	Pozitron emüsyon tomografisi
(SPECT)	Tek-foton emisyon bilgisayarlı tomografi
(Gpe)	Globus pallidum eksterna
(GPi)	Globus pallidum interna
(SNpc)	Substansiya Nigra pars kompakta
(SNpr)	Substansiya Nigra pars retikülata
(STN)	Subtalamik nükleus
(PPN)	Pedünkülopontin nükleus
(VL)	Ventrolateral talamus
(UPDRS)	Birleşik Parkinson Hastalığı Değerlendirme Ölçeği
(MAO)	Monoamin oksidaz
(COMT)	Katekol-O-metil transferaz
(HVA)	Homovalinik asit
(ACh)	Asetilkolin
(nAChR)	Nikotinik asetilkolin reseptörü
(DA)	Dopamin
(GABA)	Gamaglutamik asit
(Glu)	Glutamat
(5-HT)	5-Hidroksi triptamin
(LDT)	Laterodorsal tegmental nükleus

(NAc)	Nükleus akumbens
(PFC)	Prefrontal korteks
(MSS)	Merkezi sinir sistemi
(AIMs)	İstem dışı anormal hareket
(AMPT)	Alfa-metil-para-tirozin
(MFB)	Medial önbeyin demeti
(PYT)	Porsolt'un zorunlu yüzme testi
(OET)	Açık kolda kalma süresi
(CET)	Kapalı kolda kalma süresi
(OEN)	Açık kola giriş sayısı
(CEN)	Kapalı kola giriş sayısı
(AP)	Anteroposterior
(ML)	Mediolateral
(DV)	Dorsoventral
(PBS)	Fosfat buffer
(H₂O₂)	Hidrojen peroksit
(AEC)	3-Amino-9-etilkarbazol
(MAP2)	Mikrotübül ilişkili Protein
(L-DOPA)	L-3,4-dihidroksifenilalanin
(H&E)	Hematoksilen ve eozin boyama

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Braak Evrelemesi ve tutulum bölgeleri.....	17
Şekil 2: Bazal gangliaların fonksiyonel anatomisi.....	18
Şekil 3: (a) Fizyolojik ve (b) Patolojik parkinsonizm süreci.....	19
Şekil 4: Ubikuitin-bağımlı proteazom degradasyon sistemi.....	21
Şekil 5: Dopamin metabolizması.....	25
Şekil 6: Santral sinir sistemindeki dopaminerjik reseptörler.....	26
Şekil 7: Nigrostriatal ve mezokortikolimbik dopaminerjik sistemde ödül ve lokomotor aktivite.....	29
Şekil 8: Nikotin molekülü (C ₁₀ H ₁₄ N ₂).....	31
Şekil 9: Bazal ganglialarda yer alan nAChRs'nin yerleşimleri.....	32
Şekil 10:Mezolimbiik alanda nikotin ve dopamin ilişkisi	34
Şekil 11-12: Deney hayvanında bazal ganglia haritası.....	51

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1: Bütün gruplarda nikotinli su tüketim miktarı.....	55
Grafik 2: Bütün gruplarda sakarinli su tüketim miktarı.....	55
Grafik 3: Bütün gruplarda toplam su tüketim miktarı.....	55
Grafik 4: Bütün gruplarda stereotipik hareketler.....	56
Grafik 5: Bütün gruplarda vertikal hareketler.....	56
Grafik 6: Nikotin alan lezyonlu grupta yer değiştirme hareketi.....	57
Grafik 7: Nikotin alan lezyonlu grupta horizontal hareketler.....	57
Grafik 8: Nikotin alan lezyonlu grupta toplam katedilen yol.....	58
Grafik 9: Açık kolda kalma süresi.....	59
Grafik 10: Kapalı kolda kalma süresi.....	59
Grafik 11: Nikotin alan lezyonlu grupta zorlu yüzme testinde “hareketsiz kalma zamanı”.....	59
Grafik 12: Nikotin alan lezyonlu grupta apoptotik hücre sayısı.....	67
Grafik 13: OHDA lezyonu sonucu normal hücre sayısı.....	68

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Anestezi altındaki sıçan ve kullanılan su şişesi.....	41
Resim 2: Stereotaksik yöntem ile OHDA infüzyonu.....	43
Resim 3: Lokomotor aktivite ölçüm cihazı (DETAB)	45
Resim 4: Yükseltilmiş artı labirent düzeneği (DETAB)	46
Resim 5: Porsolt'un zorlu yüzme test silindiri (DETAB).....	47
Resim 6: Paxinos&Watson Atlası koordinatlarına göre önbeyinden geçen koronal kesit.....	53
Resim 7a-b: Striatumda, Lezyon ve Ni+Sham lezyon grubunda OHDA lezyon alanı.....	60
Resim 8: Striatumda gözlenen apoptotik hücre hasarı.....	61
Resim 9: Lezyonlu grupta izlenen inflamasyon alanı.....	61
Resim 10: Kontrol grubunda H&E boyama izlenen nöronlar.....	62
Resim 11: Striatumda, Nikotin alan sham lezyonlu grupta H&E boyama ile izlenen nöronlar.....	62
Resim 12: Striatumda, Nikotin alan OHDA lezyonlu grupta H&E boyama ile izlenen nöronlar.....	63
Resim 13: Striatumda, Nikotin almayan OHDA lezyonlu grupta H&E boyama ile izlenen nöronlar.....	63

Resim 14: Striatumda, Kontrol grubunda MAP-2 pozitif nöronlar.....	64
Resim 15: Striatumda, Nikotin alan sham lezyonlu grupta MAP-2 pozitif nöronlar.....	64
Resim 16: Striatumda, Nikotin alan OHDA lezyonlu grupta MAP-2 pozitif nöronlar.....	65
Resim 17: Striatumda, Nikotin almayan OHDA lezyonlu grupta MAP-2 pozitif nöronlar.....	65
Resim 18: Striatumda apoptotik hücre toplulukları.....	66
Resim 19: Lezyon grubunda, caspase -3 pozitif boyanmış hücreler (►)...	66
Resim 20: Lezyon grubunda apoptozis gösteren nöronlar (►).....	67

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: PH'da nonmotor semptomlar ve Braak Evrelemesi.....	09
Tablo 2: PH tanısında kırmızı bayraklar.....	15
Tablo 3: Denek grupları ve yapılan işlemlerin zamansal dağılımı	40

1. AMAÇ VE KAPSAM

Parkinson Hastalığı (PH), substantia nigrada progresif dopaminerjik nöron kaybı, striatal dopamin düzeylerinde azalma ve ekstrapiramidal motor fonksiyonlarda bozulma ile sonuçlanan kronik nörodejeneratif bir hastalıktır (1, 2, 3). Temel klinik belirtileri; istirahat tremoru, bradikinezi, rijidite ve postural instabilitedir. Parkinson hastalığında gözlenen klinik bulgular substantia nigrada yer alan nöronların %40-50'sinin, striatumda yer alan dopaminerjik nöronların ise % 60-80'inin hasarlanması sonrası ortaya çıkmaktadır (4, 5). PH'nin motor bulguların ortaya çıkışından 6-8 yıl önce başladığı ileri sürülmektedir. Bu süreç hastalığın nörodejeneratif özelliğine uygunluk gösterir (6, 7). PH'da protein yapılarında dejenerasyon proteozom sisteminde oluşan bozulmalar ya da genetik nedenlere bağlı apoptotik yolların aktivasyonu hastalığın progresyonuna katkı sağlamaktadır (8). Etiyolojik faktörler üzerinde oluşan spekülasyonlar genetik nedenler kadar çevresel faktörlerin de etiyojide rol alabileceği üzerinde yoğunlaşmıştır. Hastalığa neden olan tüm faktörler dopaminerjik hücrelerde nörodejenerasyonla sonuçlanmaktadır. Oluşan nörodejenerasyonu önleyici araştırmalar diğer nörodejeneratif hastalıklarda olduğu gibi Parkinson hastalığında da ilgi alanı haline gelmiştir. Bu çalışmalar arasında nöroprotektif özellik gösteren ajanların değerlendirilmesi ilk sırada yer almaktadır. Son yıllarda bu alandaki çalışmalardan bazıları nikotinin klinik bulgulara ve hastalığın progresine olan etkileri üzerine olmuştur (9, 10). Ancak prelinik faza etkileri henüz yeterince araştırılmamıştır. Epidemiyolojik veriler sigara içen insanlarda Parkinson hastalığının daha az oranda ortaya çıktığını göstermiştir (11, 12). Bunun nedenini sigaranın, dolayısıyla nikotinin nöroprotektif etkilerine bağlamakla birlikte sigara içme isteğinin azalmasıyla ilişkilendiren yayınlar da mevcuttur.

Nikotinin parkinsonda nöroprotektif etkili olduğuna dair birçok yayın olmakla birlikte sigaranın dolayısıyla nikotinin premotor dönemde nörodejenerasyon, davranış ve lokomasyon üzerinde oluşturduğu değişiklikler net olarak bilinmemektedir. Diğer taraftan, son yıllarda yapılan araştırmalarda nikotinin antiinflamatuvar, nöroprotektif, nöromodulator etkilerinin olduğu gösterilmiştir (13, 14, 15).

Klinik ve deneysel çalışmalar, nikotinin motor belirtileri düzeltici yönde etkilerinin olduğunu göstermektedir. Ancak premotor belirtilerle ilişkisi henüz incelenmemiştir. Nikotinin PH'nin patofizyolojisinde rol oynayan kolinerjik ve dopaminerjik yollarda

modulasyon yaparak farklı yanıtlar oluşturması PH ve nikotin etkileşimi üzerinde daha fazla çalışma yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Bu çalışmanın amacı; Parkinson hastalarının sigarayı bırakma davranışının nedenlerini araştırmak ve premotor fazdaki hastalarda nikotinin davranış değişikliklerine olan etkisini anlamaya çalışmaktır. Şu ana kadar geliştirilen deneysel hayvan modelleri insanda görülen idiyopatik Parkinson hastalığını tam olarak yansıtamamakla birlikte hastalığın patogeneze ve tedavisine dair önemli katkılar sağlamaktadırlar. Çalışmamızda, PH'nın prelinik fazı olarak 1994 yılında Sauer ve Oertel tarafından tanımlanan ve 1999 yılında Linder tarafından önerilen; inkomplet progresif nigrostriatal hücre kaybı ve parsiyel striatal dopamin deplesyonu oluşturulan hayvan modeli kullanılmıştır. Bu modelde, sıçanda parkinsonun premotor dönemi oluşturularak, retrograd difüzyon ile VTA'da parsiyel dejenerasyona yol açacak şekilde, bilateral striatal 6-OHDA lezyonu yapılmıştır (16). Oluşturulan bu kimyasal lezyonun oral nikotin tüketimine olası etkisi, lezyonlu hayvanlarda nikotinin emosyonel ve davranışsal etkileri ve nikotinin nörodejenerasyon üzerine etkileri araştırılmıştır.

Nikotin ile PH arasında zıt ilişkinin varlığı yaklaşık 40 yıldır bilinmektedir (17, 18). Bu uzun zaman aralığında gerçekleştirilen az sayıda klinik çalışmada; sigara içen kişilerde PH'nın daha az görüldüğü bildirilmiştir (12, 17, 19). Nikotinin parkinson semptomlarını düzelttiği (9, 10, 20, 21), PH'nın postmortem incelemelerinde kortikal ve subkortikal düzeyde nikotinik reseptörlerin sayısının azaldığı (22, 23, 24) ve reseptör alt-ünite sunulumlarının farklı olduğu (25, 26) gösterilmiştir.

İn vitro ve in vivo çalışmalarda, striatumda kolinerjik ve dopaminerjik sistem anatomik olarak örtüşmektedir (27). Nikotinin striatal dopamin salınımında artışa neden olduğunun gösterilmesi, bu iki nörotransmitter sistemi arasındaki fonksiyonel ilişkiyi ortaya koymaktadır (28). Bununla birlikte nikotinin, toksik bileşiklerin dejeneratif etkilerine karşı koruyucu rolü olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (12, 29, 30, 31, 32). Hücre kültürü çalışmalarında nikotin tedavisi ile nörotoksinlere bağlı nigral dopaminerjik nöronlardaki dejenerasyonun (33) ve istenmeyen eksitotoksik etkilerin azaldığı gösterilmiştir (12, 29, 30, 31, 32). Yakın tarihli bir çalışmada, nikotinin kolinerjik α -7 nikotinik reseptörler üzerinden mikrogial aktivasyonu düzenlediği, anti-inflamatuar ve nöroprotektif etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (34). Ayrıca, nikotinin PH'nın patognomonik bulgusu olan lewy cisimciklerinin yapısında bulunan alfa-sinüklein fibrillerinin oluşumunu baskıladığı gösterilmiştir (35).

Bugün en etkin tedavi olarak kullanılan L-Dopa'nın, uzun süre kullanımda motor işlevlerde dalgalanmalar ve anormal istemsiz hareketler (diskinezi) gibi komplikasyonlara neden olduğu bilinmektedir (36). Henüz dopamin destek tedavisinin dışında, hastalığın ilerleyişini yavaşlatacak ve/veya durduracak ve komplikasyon riski düşük bir tedavinin bulunmayışı, bilim adamlarının farklı tedavi arayışlarına yönlendirmiştir. Nikotin ve nikotinik reseptörler, bu potansiyel hedefler arasında yer almaktadırlar (35, 37, 38). Tüm bu yeni bilgiler PH'nın patofizyoloji ve tedavisinde dopamin dışında diğer aminlerin de rol alabileceği ve bu konuda daha fazla deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PARKİNSON HASTALIĞI

Parkinsonizm; istirahat tremoru, bradikinezi, rijidite, postural refleks kaybı, fleksiyon postürü ve donmayı (motor bloklar) içeren altı kardinal bulgunun kombinasyonu şeklinde ortaya çıkan nörolojik bir sendromdur. UKBB (United Kingdom Brain Bank) kriterlerine göre bu altı kardinal bulgudan en az ikisinin varlığı (en az biri istirahat veya tremor ve bradikinezi olmalı) Parkinson hastalığı tanısı için yeterlidir. Parkinsonizme yol açan nedenler dört büyük başlıkta toplanabilir: primer parkinsonizm, sekonder parkinsonizm, parkinson artı hastalıklar ve heredodejeneratif hastalıklar.

Primer parkinsonizm, idiyopatik Parkinson Hastalığı olarak tanımlanmaktadır. Hastalık, daha önce tanımlanmış olmasına rağmen PH'nın ilk inandırıcı tanımını yapan James Parkinson'a atfedilir. "The Shaking Palsy " (1817) adlı monografında kendi hastaları olduğu kadar Londra sokaklarında gözlediği olguların betimlemelerinde hastalığın ana özelliklerini tanımlamıştır. Zamanla substantia nigranın (SN) depigmentasyonunun spesifik patolojik bulguları ile eozinofilik sitoplazmik inklüzyonlar (Lewy cisimcikleri) içeren melaninli dopaminerjik nöronların kaybı arasındaki ilişki anlaşıldığında; parkinson hastalığı veya idiyopatik Parkinson Hastalığı, " paralizi ajitans " olan özgün terimin yerini almıştır. Dopamin eksikliği 1959' da Hornykiewicz tarafından tanımlanmış ve bu keşif sonuçta; L-Dopa ve doğrudan etkili dopamin agonistlerinin klinik pratikte kullanımlarının önünü açmıştır. Değişken penetranla birlikte parkinsonizmin farklı genetik formlarının keşfi PH'nın genetik ve çevresel etiyojilerle birlikte bir sendrom olduğu düşüncesine yol açmıştır (39).

2.2. EPİDEMİYOLOJİ

Toplum-tabanlı serilerde PH 100.000'de 360 prevalans ve yılda 100.000'de 18 insidans ile tüm parkinsonizmlerin % 80' inden fazlasından sorumludur (40). PH, prevalansı 50 yaşından sonra başlayarak tedrici olarak ve 60 yaştan sonra belirgin bir artış gösteren yaşla

ilişkili bir hastalıktır. Hastalık 30 yaş öncesi nadirdir ve çoğunlukla parkinsonizmin herediter bir formunu düşündürür.

Epidemiyolojik çalışmalar; çevresel ağır metallere veya organik toksinlere maruziyetin PH riskinde artışla veya PH'nın daha erken başlangıç yaşı ile ilişkili olabileceğini belirtir. Olgu-kontrol çalışmaları, tarım endüstrisinde çalışanlarda, pestisidlere maruz kalmış olanlarda veya ciddi kafa travması geçirmiş olanlarda PH riskinin arttığını ileri sürmüştür (40).

PH'nın çevresel nedenleri için kanıt başlıca iki kaynaktan gelir: MPTP'ye maruz kalmış parenteral ilaç kullanıcılarından parkinsonizmin tesadüfi keşfi ve sporadik PH ve diğer parkinsonizmlerin belli yaşam biçimleri veya mesleki maruziyetlerle olan epidemiyolojik ilişkileri. Otuz yıl kadar önce az sayıda madde bağımlısının MPTP (mitokondrial protoksin) ile kontamine meperidin analogunun parenteral uygulanmasının ardından ağır bir L-Dopa yanıtı parkinsonizm gelişmesi; çevresel toksinlerin PH'na neden olabileceğini gösterdi (41). İnsanlarda MPTP'nin neden olduğu parkinsonizmin keşfi hastalığın etiyopatogenezinin anlaşılmasında önemli sonuçlar doğurdu. Bunların başında sporadik hastalıkta önemli olabilecek çevresel toksinlerin etkileri gelmektedir. Ancak diğer yandan kahve tüketimi yada sigara kullanımı gibi çevresel faktörlerin PH riskini azaltması ile ilgili veriler de mevcuttur (42).

2.3. ETİYOLOJİ

Çok sayıda PH tanısı almış hasta ile yapılan çalışmada; PH'nın muhtemelen genetik ve çevresel belirleyicilerle birlikte multifaktöryel bir hastalık olduğu ileri sürülmüştür. Herediter PH nadir olmasına rağmen PH'nın ailesel olarak kümelenmeye bir eğilimi vardır. İkiz çalışmalarında hereditenin topluma oranla küçük bir rol oynadığı ileri sürülmekle birlikte hastalığın 50 yaşından önce başladığı ikizlerde, herediter bileşen daha büyüktür (39). Birçoğu çelişkili olmasına rağmen, etiyolojide yer alan diğer faktörler; tahta koruyucular, ağır metaller, çözücüler, kafa travması, genel anestezi ve egzoz dumanıdır. İnsanlarda parkinsonizme sebep olduğu bilinen özel toksinler, 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP), izokinolinler, beta karboniller, n-hekzan, karbon monoksit, karbon disülfid ve mangandır (43). Kafein alımının, sigara içiminin, aspirin ve non-steroidal antiinflamatuvar ilaçların kullanımının PH riskini azalttığı bildirilmiştir (27, 44, 45).

PH olgularının çoğu sporadik olmasına rağmen özellikle hastalık başlangıç yaşı 50 yaşından önceyse, genetik faktörlerin PH patogenezinde rol oynadığı düşüncesi giderek

belirgin hale gelmektedir (46). Hastaların yaklaşık % 20-25'inin en az bir birinci dereceden Parkinson hastası yakını vardır ve birinci derece yakınların diğerlerine göre PH geliştirme olasılığı 2-3 kat daha fazladır. Çalışmalar PARK1 olarak adlandırılan ilk monojenik PH formunda alfa-sinüklein geninde (SNCA) en az üç farklı mutasyon belirlemiştir. Daha sonra SNCA geninin kantitatif gerçek-zamanlı PCR amplifikasyonu uygulaması orijinal olarak PARK4 olarak adlandırılmıştır (47).

Golgi kompleksi ile birlikte Parkin proteininin veziküler transportta da görevli olduğu düşünülmüştür. Parkin güçlü bir şekilde birçok proteine ve mikrotübüle bağlanır, parkin mutasyonu olan hastalarda bunun bozulması veziküler transportu etkiler ve nigrostriatal dejenerasyona katkıda bulunabilir (48). Normal parkin, ubiquitinasyon ve ardından belli proteinlerin proteazomlar tarafından degradasyonunda görevliyken, mutasyona uğramış parkin proteini bu aktiviteyi kaybeder ve böylece Lewy cisimciği oluşmadan seçici bir nöronal kayba neden olarak proteinlerin birikmesine yol açabilir. Tipik PH özelliklerine ek olarak PARK2 hastaları hiperrefleksi, distoni, bacak tremoru, otonomik disfonksiyon, duyuşsal aksonal periferik nöropati, L-Dopa'nın neden olduğu diskineziler, psikoz ve diğer davranışsal ve psikiyatrik sorunlar gibi birçok atipik özellikler gösterirler (49). PARK2 geç başlangıçlı hastalarda da gösterilmiş olmasına rağmen 40 yaşından önce başlayan PH'nın yarısı parkin mutasyonlarına sahiptir.

2.4. KLİNİK BULGULAR

Parkinson hastalığıyla ilgili çok sayıda belirti ve bulgu söz konusudur ve klinisyen hastadan uygun bilgileri almak ve çeşitli nörolojik bulguları ortaya çıkaracak şekilde nörolojik muayeneyi yönlendirmekte tecrübeli hale gelmelidir (50, 51). Parkinson hastalığının görünümü güçlükle fark edilen tremordan hastalığın son evresindeki ciddi maluliyete kadar değişebilir. PH'nın başlangıç ve progresyonu tipik olarak tedricidir. En sık başvuru nedeni, sıklıkla kol salınımında azalma ve omuz ağrısı ile birlikte bir eldeki istirahat tremorudur. Bradikinezi ve rijidite çoğunlukla semptomatik tarafta saptanabilir ve yüz ifadesinde azalma gibi orta hat belirtileri ya da hafif kontralateral bradikinezi ve rijidite de bulunabilir (50). Eğer bradikinezi ilk belirti ise, özellikle de başlangıç baskın olmayan tarafta olduğunda doktora başvuru gecikebilir (52). Bradikinezi hastalık seyri boyunca sıklıkla asimetric olarak kalır. Hastalığın ilerlemesi ile jeneralize bradikinezi, sandalyeden kalkma veya yatakta dönmekte zorluğa neden olabilir. Yürüme ve denge ilerleyici bir şekilde etkilenir ve düşmeler olabilir.

Önce yürümeye başlamakta ve dönmekte zorluklar yaşanırken daha sonra yürüyüş süresince donma veya motor bloklar olarak da adlandırılan hareketlerde ani duraklamalar izlenir (52). Bulber işlevler zamanla bozularak beslenmeyi etkileyebilir. İlk etkili dopaminerjik tedavi kullanılır hale gelmeden önce tanımlanan (1960) Hoehn ve Yahr Evreleme ölçeği, hastalığın hafif tek taraflı semptomlarından, hareketsiz son evresine kadar olan progresyonun basamaklarını gösterir. Hoehn ve Yahr evrelemesinin modifiye versiyonu günümüz klinik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (53).

HOEHN VE YAHR EVRELEMESİ

A) Orijinal Ölçek

Evre	Hastalık Durumu
1	Tek Taraflı tutulum, fonksiyonel minimal ya da yok.
2	Bilateral veya denge bozukluğu olmamadan orta hat tutulumu.
3	Bozulmuş düzeltme refleksinin ilk belirtisi, hafif orta özürlülük.
4	Tam ağır özürlülüğe neden olan hastalık; hasta yürüyebilir.
5	Yardım edilmedikçe yatağa ya da tekerlekli sandalyeye bağımlı.

B) Modifiye Ölçek

Evre	Hastalık Durumu
0.0	Hastalık belirtisi yok.
1.0	Tek taraflı hastalık.
1.5	Tek taraflı hastalık ve aksiyel tutulum.
2.0	Bilateral hastalık, denge bozukluğu olmaksızın.
2.5	Hafif bilateral hastalık, pull testinde düzeltme ile birlikte.
3.0	Hafif-orta bilateral hastalık; bir miktar postural instabilite.
4.0	Ağır dizabilite; hala yürüyebilir veya yardımsız ayakta durabilir.
5.0	Yardım edilmedikçe tekerlekli sandalye veya yatağa bağımlıdır.

2.4.1.Premotor Faz

Parkinson hastalarında istirahat tremoru, bradikinezi ve rijiditeden oluşan kardinal motor bulguların dışında kinik özelliklerinin geriye doğru irdelenmesi sonucu yaygın kas katılığı, uzuvlarda ağrı veya pareteziler, konstipasyon, uykusuzluk ve ses kısıklığı gibi özgül olmayan belirtiler görülebilmektedir (54). Hastalık ilerledikçe ayrıntılı anamnezle ortaya çıkan daha özgül şikayetler arasında ise ince motor beceride sorunlar, koku duyusunda azalma, iştah kaybı ve anksiyete ile beliren tremor yer alır. Aile üyeleri geriye yönelik sorgulandığında, hastalarda emosyonların dışavurumunun azaldığı, içe kapanma, depresyon, anksiyete ve sabit fikirli oluş gibi kişilik değişikliklerinin geliştiği görülmektedir (55). Bütün bu nonmotor bulguların parkinson hastalığından yıllar önce ortaya çıkması ve yapılan nörogörüntüleme ve patolojik çalışmalar sonucu hastalığın premotor fazının olduğu anlaşılmıştır (56, 57, 58).

Kardinal motor semptomların ortaya çıkışı ile tanı alan hastaların, bu dönemde substantia nigralarında %58-64 dopaminerjik nöron hasarı ve striatumlarında % 60-80 dopaminerjik nöron kaybı tesbit edilmiştir (4, 5). Dopaminerjik sistemin görüntüleme çalışmalarında ve SN' da postmortem pigmente nöronların sayımları sonucu elde edilen bilgiler aslında klinik tanıdan 5-6 yıl önce dopaminerjik nöron kaybının başladığını göstermektedir (6, 7). Parkinson hastalığının premotor semptomlarını konstipasyon, erektil disfonksiyon, postprandiyal ve ortostatik hipotansiyon gibi disotonomik bulgular, olfaktör disfonksiyon, REM uykusu davranış bozukluğu (RDB), depresyon, anksiyete gibi mood değişiklikleri, huzursuz bacak sendromu, yorgunluk, ağrı, parestezi, apati gibi nonspesifik şikayetler oluşturmaktadır (59).

Nonmotor semptomlar PH'da bir major özürlülük nedeni olarak giderek daha fazla tanınmakta ve özellikle hastalığın daha ileri evrelerinde yaşam kalitesinin azalmasına belirgin olarak katkıda bulunmaktadır (60). Otonomik semptomlar; azalmış gastrointenstinal geçiş zamanı ve konstipasyon, sık idrara çıkma, zaman zaman yetişememe inkontinansı, impotans, terleme bozukluğu ve ortostatik hipotansiyon gibi hastaların yaşam kalitesini etkileyen bulguları kapsar. Kognitif ve davranışsal değişiklikler de oldukça sıktır. Dikkat ve konsantrasyon azalır. Yönetici işlev disfonksiyonu, çalışma belleği, planlama ve organizasyon bozukluğu ile birlikte sık görülür. Global demans görülme sıklığı hastaların yaşının ilerlemesine paralel olarak artan sıklıkta, yaklaşık % 30'unda görülür. Erken yönetici işlev disfonksiyonu olanlar ve daha şiddetli motor bulguları olanlar özellikle risk altında görülmektedir (61). Anksiyete, depresyon ve diğer mizaç bozuklukları PH'da sıktır (62)

TABLO 1: NON MOTOR SEMPTOMLAR VE BRAAK EVRELERİ (63)

<i>Non-motor semptomlar</i>	<i>Lokalizasyon</i>	<i>Premotor fazda semptomlar</i>	<i>BRAAK evresi ile karşılaştırma</i>
Olfaktör kayıp: Koku alamama, koku ayırt edememe	Olfaktör bulbus, ant. olfaktör nukleus, amigdala, peririnal korteks	Hiposmi	Evre 1: Olfaktör bulbus, ant. olfaktör nukleus
Disotonomi: GİS (konstipasyon), üriner Sorunlar, seksüel sorunlar (impotans), ortostatik hipotansiyon	Amigdala, Vagusun dorsal nukleusu, İntermediolateral kolumna, enterik ve abdominopelvik otonomik pleksus	Konstipasyon, genitoüriner disfonksiyon	Evre 1: Vagusun dorsal nukleusu, enterik ve abdominopelvik otonomik pleksus
Duygudurum bozuklukları (Depresyon, anksiyete)	Lokus seruleus, Raphe nukleus, Amigdala, mesolimbik mezokortikal korteks	Depresyon, anksiyete	Evre 2-3: Lokus seruleus, Raphe nukleus
Uyku bozuklukları: İnsomnia, REM uykusu bozuklukları	Nukleus subseruleus, pedinkülopontin nukleus, talamus, subtalamus	İnsomnia, REM uykusu bozuklukları	Evre 2: Nukleus subseruleus, pedinkülopontin nukleus
Diğer nonmotor semptomlar: Ağrı, apati, yorgunluk, obezite, renk ayırma kusuru, huzursuz bacak send.	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
Halüsinasyon, psikoz	Amigdala, limbik korteks	Bilinmiyor	Evre 4-5
Kognitif disfonksiyon, demans	Frontal ve ventral temporal lob, hipokampus, Meynert' in basal nukleusu, amigdala, l. seruleus	Bilinmiyor	Evre 5-6

2.4.2.Kardinal Motor Bulgular

Bradikinezi: PH'nın en özgün klinik belirtisi olan bradikinezi başlangıçta hareketlerin yavaşlığı ve reaksiyon zamanı uzaması olarak ortaya çıkabilir (63). Tüm vücut yavaşlığı ve ince motor hareketlerin bozulmasına ek olarak bradikinezinin diğer belirtileri; tükürüğün yutulmamasına bağlı salya akması, monoton ve hipofonik dizartri, yüz ifadesinin kaybolması (hipomimi) ve yürüyüşe eşlik eden (asosiye hareketlerin kaybı) kol hareketlerinin azalmasıdır (63). Bradikinezinin patofizyolojisi kesin olarak anlaşılamamıştır, fakat hareket komutunu hazırlayan ve gerçekleştiren kortikal mekanizmaları güçlendiren bazal gangliyon çıktılarının yetersizliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (50).

Tremor: Tremor genellikle hastalar tarafından tanımlanan ilk semptomdur. Eldeki tremor 'hap yapma tremoru' olarak isimlendirilmiştir. Yüz bölgesindeki tremor, en sık olarak dudaklar ve çenede belirir, baş tremoru seyrekdir. Bazı parkinson hastaları iç tremor adı verilen, kendilerinin hissettiği, ancak başkalarının göremediği tremordan yakınırlar. PH'nın tremor ile ortaya çıkması daha yavaş seyirli hastalık progresyonu ve daha iyi prognoza işaret eder. Progresyonun yavaş olduğu, soygeçmişinde tremor hikayesi olan ve levodopaya yanıtın kötü olduğu Parkinson hastalarında görülen tablo için selim tremorlu parkinsonizm (benign tremulous parkinsonizm) terimi kullanılır (64). Tremorun hakim olduğu çoğu Parkinson hastasında postürün başlatılmasından birkaç saniye (birkaç dakikaya yükselebilir) geçtikten sonra tremor ortaya çıkar. Hastalığın başlatılması öncesinde istirahat tremoru olmaması, harekete başlayınca geçmesi, postürün kazanılmasını takiben bir süre sonra tekrar tremorun belirmesi nedeni ile 'tekrar beliren tremor' (reemergent tremor) terimi kullanılır (64). İzole postural tremor PH'nın erken dönem belirtisi olabilir ve parkinson hastalarının akrabalarında beklenenden daha siktir (65).

Rijidite ve Fleksiyon Postürü: Ektremitelere pasif fleksiyon, ekstansiyon ve rotasyon hareketleri yaptırılarak muayene edilen rijidite, pasif hareket menzili boyunca karşılaşılan direncin artması şeklinde ortaya çıkar. Muhtemelen rijiditeye bağlı olan fakat sıklıkla artrit, bursit ve 'rotator cuff' olarak yanlış tanı alan ağrılı omuz PH'nın en sık görülen başlangıç belirtilerinden biridir. Rijidite erken PH'da sık görülen bir bulguyken fleksiyon postürü hastalığın ileri dönemlerinde ortaya çıkar (66).

Postural Refleks Kaybı: Genellikle hastalığın daha ileri evrelerinde ortaya çıkar ve kalça kırıklarına yol açabilen düşmelerin en sık nedenidir. Kadın cinsiyet, simetrik başlangıç, postural dengesizlik ve otonom yetersizlik PH'da düşme riskini öngören en belirleyici

özelliklerdir (67). Postural dengesizliğin özellikle gövdede fleksiyon postürü (kamptokormi) ile beraber olduğu hastalarda festinasyon görülür. Festinasyon, düşmemek için öne doğru yer değiştirmiş olan normal ağırlık merkezini kovalamak için gittikçe artan hızda yürümeyi ifade eder. Postural reflekslerin kaybı aksiyal rijidite ve bradikinezi ile beraber olduğunda, oturma girişimi sandalyeye yıkılma şeklinde olacaktır. Hastaya ayakta iken çekme testi (hastayı omuzlarından çekmek-pull test) uygulanarak postural refleks kaybı belirlenebilir (63).

Donma: Parkinson hastalığında en özürülük yaratan belirtilerden biri motor bloklar adı da verilen akinezi (hareket kaybı) durumudur (68). Sıklıkla yürürken bacakları etkilemesine rağmen üst ekstremiteleri ve göz kapaklarını da (göz kapağı açma veya kapama apraksisi) içerebilir (69). Donma ani ve geçici (birkaç saniye) hareket edememe halidir. Tipik olarak yürüme başlatılırken donmaya, dönerken veya dar geçitlerde yürürken (kapı veya asansör gibi) yoğun trafikte karşıdan karşıya geçerken veya bir hedefe ulaşırken (hedef hesitasyonu) aniden ayağı hareket ettirememeye yol açar. Donmanın lokus seruleus dejenerasyonu sonucu noradrenerjik eksikliğe bağlı olabileceği düşünülmektedir (70).

2.4.3. Eşlik Eden Diğer Motor Bozukluklar

Frontal lobda inhibitör mekanizmaların yıkılmasına bağlı ilkel refleksler ortaya çıkar (63). Glabellar refleks; alında glabellar bölgeye tekrarlayan uyarılar verilmesiyle ortaya çıkarılan tekrarlayıcı göz kırpma hareketidir. Normal kişilerde refleks göz kırpma yorulur veya iki ile beş vuruş sonunda her vuruştan sonra göz kırpma olmaz. Bulber belirtilerin (dizatri, hipofoni, disfaji ve siyalore) orofasiyal ve laringeal bradikinezi ve rijiditeden kaynaklandığı düşünülmektedir (63). Sıklıkla hipokinetik dizartri olarak ifade edilen PH ile ilişkili konuşma ve ses bozukluğunun karakteristik özellikleri; düşük hacimli (hipofoni), tekdüze (monoton) ses şiddeti ve ses perdesi (aprozodi), hatalı telaffuz edilen sessiz harfler, duraksamalar ve hızlı konuşma eğilimi (takifemi) olarak tanımlanabilir (63).

2.4.4. Otonom İşlev Bozukluğu

Ortostatik hipotansiyon, terleme bozukluğu, sfinkter bozukluğu ve cinsel impotans gibi disotonomi parkinson hastalarında sıklıkla gelişir (71). Parkinson hastalarında ortostatik hipotansiyon genellikle dopaminerjik tedaviye bağlanmaktadır. Terleme bozukluğu,

hiperhidroz ve daha az oranla hipohidroz kontrollerde %12,5 oranında olmasına karşın Parkinson hastalarının %64'ünde bildirilmiştir (P<0.005) (63). Salya akması (siyalore) PH'nın en utandıran belirtilerinden biridir. Aşırı salya akmasının yutma güçlüğüne bağlı olduğu ileri sürülmektedir (63). Disfaji ile gecikmiş mide boşalması ve konstipasyon PH'nın en sık gastrointestinal belirtilerini oluştururlar (72).

Sebore, saç dökülmesi gibi dermatolojik belirtiler ve bacak ödemi gibi bulguların bir kısmı antiparkinsoniyen tedavi ile artsa da PH'da periferik tutulumla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (73). İlk tanımlamasında James Parkinson motor belirtilere odaklanmasına rağmen uyku ve gastrointestinal işlevlerle ilgili sorunlar gibi hareket ile ilişkisi olmayan özelliklere de dikkati çekmiştir (63). Bu motor ve dopaminerjik olmayan belirtiler daha sonra büyük ölçüde göz ardı edilmiştir. Fakat son dönemlerdeki çalışmalar bu belirtilerin sıklığı ve özellikle hastalığın ileri dönemlerinde hastanın yaşam kalitesi üzerindeki ciddi etkilerine açıklık getirmiştir (60, 74).

2.4.5. Bilişsel ve Nörodavranışsal Bozukluklar

Parkinson hastalarında temperopariyetal kortikal hipometabolizma söz konusudur ve bu gelecekteki bilişsel etkilenme için iyi bir gösterge olabilir. Bilişsel işlev bozukluğunun bir diğer göstergesi kaudat nukleus, frontal korteks ve mezolimbik yollarda (63) azalmış F-florodopa tutulumu olabilir. PH'nın erken evrelerindeki bilişsel bozukluğun frontostriatal nöral döngülerde aktivite azalmasıyla bağlantılı olduğuna işaret etmektedir. Parkinson hastalarında kontrollere göre demans gelişme riski iki kat artmıştır ve demanslı Parkinson hastalarının kardeşlerinde Alzheimer hastalığı riski yüksek bildirilmiştir (75). Patolojik olarak demans, özellikle singulat ve entorhinal korteks başta olmak üzere kortekste (76) Lewy cisimciklerini de içeren patolojiyle (77) korelasyon gösterir. Anhedoni, Parkinson hastalığında sık görülen ve depresyon veya motor belirtilerden bağımsız bir başka belirtidir (78). Bazı araştırmacılar PH ile ilişkili depresyon, anksiyete, enerji azlığı ve cinsel işlev bozukluğu gibi motor olmayan belirtileri eşlik eden testesteron eksikliğine (Parkinson hastalarının %35'inde bulunur) bağlamışlar ve testesteron tedavisinin bu hastalar için uygun tedavi olabileceğini (79) ileri sürmüşlerdir. Birçok çalışmada psikoz görülmesinin sıklıkla depresyon, anksiyete ve apati gibi diğer psikiyatrik belirtiler ve demansla (63) ilişkili olduğu gösterilmiştir. Halüsinasyonlar için risk faktörleri arasında ileri yaş, hastalık süresi, depresyon, bilişsel bozukluklar, gündüz uykululuk, azalmış görme keskinliği, ailede demans

öyküsü (80) ve dopaminerjik ilaçlar (81) yer almaktadır. Ana motor belirtilerin yanı sıra Parkinson hastalarının yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyebilecek PH ile ilgili depresyon, uyku bozukluğu ve çabuk yorulma gibi çok sayıda davranışsal ve bilişsel belirti vardır (82).

2.4.6. Uyku Bozuklukları

Çalışmaların çoğu gündüz aşırı uykululuk ve karşı konulamayan uyku epizodlarını (uyku ataklarını) anti-PH ilaçlarına bağlasa da bazı yazarlar bazı yazarlar uyku bozukluklarının PH'nın önemli bir parçası olduğuna ve antidepresan veya benzodiazepinlerle gece uykusunun arttırılmasının gündüz uykululuk halini azaltmayacağına inanmaktadırlar (83). Parkinson hastalığında dopamin kaybı genellikle putamen ve kaudat çekirdekten sonra limbik yapılara ulaşmaktadır. Limbik yapılardaki dopamin kaybının gündüz aşırı uykululuk ve REM ile başlayan uyku halinin ortaya çıkmasında olası etken olabileceği düşünülmektedir (84).

Canlı rüyalar ve kâbuslar özellikle tedavi edilen hastalarda oldukça yaygındır. PH'da uyku bozuklukları değişik derecelerde hastalığın kendi patolojik değişiklikleri, hareketsizlik nedeni ile uyanmalar, birlikte bulunan primer uyku bozuklukları ve antiparkinson ilaçların yan etkileri ile ilişkilidir. Olguların çoğunda aşırı gündüz uyku hali dopaminerjik ilaçlarla ilişkilidir (85).

Uyku bozuklukları Parkinson hastalarının neredeyse hepsinde bulunur ve multifaktöryeldir. Bozulmuş uyku başlangıcı ve devamlılığı gece uykusunun parçalanmasına neden olur. Uyku kalitesini bozan durumlar arasında; huzursuz bacak sendromu, periyodik bacak hareketleri ve REM uykusu davranış bozukluğu (RDB) yer alır. Yorgunluk ise PH'nın sık görülen kompleks bir semptomudur. Yorgunluğun aşırı gündüz uykululuğu, depresyon, apati ve diğer durumlardan ayırt edilmesi güç olabilir ve henüz ölçülmesi ve tedavisine ilişkin yararlı bir literatür birikimi yoktur (60).

2.4.7. Duyusal Bozukluklar

Parkinson hastaları motor ve davranışsal belirtilere ek olarak, çeşitli duysal bozukluklar ifade ederler. Parestezi, akatizi, oral ve genital ağrı (86) gibi duysal belirtiler genellikle parkinsoniyen belirtiler olarak görülmez ve gereksiz yorucu tanısal işlemlere neden olurlar.

Duyusal bozuklukların en önemlilerinden biri olan koku algılaması PH'da çok erken evrelerde bozulur (87). Bir çalışmada idiyopatik koku algılaması bozukluğunun (hiposmi) PH gelişmesi riskinin %10 artmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (88). PH'da %90 oranında kokuyu algılama veya ayırt etme kusuru şeklinde olfaktör disfonksiyonlar görülebilmektedir (87). Motor bulgular asimetric veya unilaterale olabilirken olfaktör disfonksiyon bilateral olarak görülmektedir (89). Yapılan çalışmaların çoğu, hiposminin Parkinson tanısından 2-7 yıl önce başladığına işaret etmektedir (90). Bu da SN'da dopaminerjik nöron kaybının başladığı düşünülen süre ile korelasyon göstermektedir (91). Olfaktör bulbus ve anterior olfaktör nukleusta Lewy cisimciklerinin birikmesi ilk patolojik süreci başlatabileceği gibi primer olfaktör korteks, frontal ve temporal piriform korteks de patolojik sürece katkıda bulunabilmektedir (92). Parkinson hastalarında ağrı, eklem pozisyon duysusu bozukluğu gibi başka duysal bozukluklar da söz konusudur (93).

2.5. PARKİNSON HASTALIĞININ TANI VE AYIRICI TANISI

Parkinsonizmin PH dışındaki sekonder nedenleri arasında, parkinsonizm-artı sendromlar ve heredodejeneratif hastalıklar yer alır (93). Parkinson hastalığını diğer Parkinson nedenlerinden ayırmada yardımcı olan özellikler arasında; tremorun olmayışı veya geri planda olması, erken beliren yürüyüş bozukluğu (donma gibi), postural dengesizlik, piramidale yolak bulguları ve levodopaya yanıt azlığı yer alır. Erken dönem PH tanısını koyarken klinisyen kırmızı bayraklar olarak bilinen ayırıcı özelliklerin (Tablo 2) farkında olmalıdır (94).

TABLO 2: PH TANISINDA KIRMIZI BAYRAKLAR (94)

Erken ve belirgin demans
Birinci yıl içinde başlayan düşmeler
Beş yıl içinde tekerlekli sandalyeye bağımlılık
Simetrik bulgular
Erken otonomik yetmezlik
Apraksi, kortikal duyu kaybı, yabancı el
Bulber disfonksiyon
Uyku apnesi, İspiratuar stridor

Hızlı etkili bir dopamin agonisti olan apomorfinin derialtı enjeksiyonu levodopa yanıtını öngörmekte kullanılmakta ve böylece PH ve diğer parkinsoniyen hastalıklar arasında ayırım yapmakta yararlanılmaktadır (95). Parkinson hastalarının apomorfinden yarar görme olasılığı daha fazla olmasına rağmen test oldukça kullanışsızdır ve PH tanısında güvenilir değildir. Rutin laboratuvar çalışmaları PH tanısında yardımcı değildir ve atipik özellikleri olan hastalar için yapılmalıdır. Bilgisayarlı tomografi (BT) veya manyetik rezonans görüntüleme (MRG) gibi nörogörüntüleme çalışmaları PH tanısı konulmasında yardımcı değildir çünkü genel olarak normaldir veya rastrantısal anormallikler gösterir. Zaman zaman nörogörüntülemedeki anormallikler progresif supranükleer palsi (PSP) veya multisistem atrofi (MSA) gibi alternatif tanıların düşünülmesinde yararlı olabilir (93).

Radyoformasötik 6-[¹⁸F]-fluorodopa (F-dopa) SN'daki dopaminerjik hücreler tarafından alınır ve 6-[¹⁸F]-fluorodopamine metabolize edilir. Bu farmasötik ajanı kullanarak yapılan pozitron emüsyon tomografisi (PET) taramaları; putamen ve kaudatta ipsilateral SN dejenerasyonunu ve kontrateral vücut yarısındaki semptomların şiddeti ile orantılı dopaminerjik sinir terminallerinde azalmış F-dopa alımını gösterir. Striatumda sinir terminalleri üzerindeki dopamin taşıyıcısı işaretleyen radyoliganlarla yapılan tek-foton emisyon BT (SPECT) diğer bir araştırma aracıdır ve klinik uygunluğu halen araştırılmaktadır. Rutin elektrofizyolojik testlerin PH tanısında bir rolü yoktur. Tanımlanmış genetik nedenlerin nadir olmaları ve genetik danışmanlık için yorumlanmalarının zorluğu DNA testlerinin rutin olarak PH tanısında kullanılmasını zorlaştırmaktadır (39). Muhtemelen çeşitli nörodejeneratif

hastalıklarda hastaların beyinlerinde gen ekspresyon analizleri ve hastalığa özgül ekspresyon biçimlerinin tanınması gelecekte PH'nın diğer parkinsoniyen hastalıklardan ayırt edilmesine yardımcı olacaktır.

PH'nın tipik patolojik değişikliklerini en iyi yansıtan klinik tablo; istirahat tremor, rijidite veya bradikinezi ile birlikte asimetric hastalık ve levodopa ile belirgin iyileşmeye ek olarak parkinsonizme neden olduğu bilinen diğer tanılarının dışlanması olarak tanımlanmıştır (96, 97).

2.6.PATOLOJİ

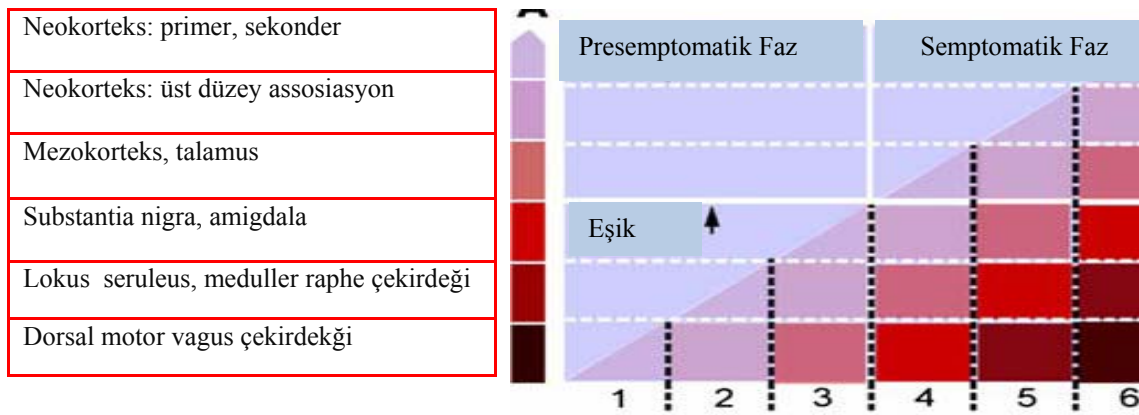
Parkinson hastalığı nörodejeneratif hastalıklar arasında sık görülen klinik bir tablodur. Substantia nigranın pars kompakta bölgesinde dopaminerjik nöronların dejenerasyonu, Parkinson hastalığının motor semptomlarının ortaya çıkmasından sorumlu primer patolojidir. Mikroskobik değişiklikler; nöronal kayıp, gliosis ve depigmentasyon şeklindedir. Lewy cisimcikleri küresel, eozinofilik, nöron çekirdeğinde yer alan intrasitoplazmik protein agregatları olup lipid, demir, ubikuitin, parkin, alfa-sinüklein, tubulin ve hiperfosforile nörofilament proteinleri içermektedir (98).

Lewy cisimciklerinin henüz patolojik tanı kriterleri arasında yer aldığını belirten bir konsensus olmamasına rağmen birçok araştırmacı PH için patolojik belirteç olduğu kanaatindedir. Parkinson hastalarının SN, Meynert'in bazal ganglionu, serebral korteks, sempatik ganglionu, dorsal vagal nükleusu, barsakların myenterik plexusu ve kardiyak sempatik plexusunda lewy cisimciklerine rastlanmıştır (98).

Braak ve arkadaşlarının ortaya attığı bir hipotezde; PH'daki patolojik değişiklikler substantia nigradan çok önce olfaktor bölgede ve vagusun dorsal motor çekirdeğinin çevresinde başlamaktadır (91). Daha sonra locus ceruleus ve rafe çekirdekleri etkilenmektedir. Yine periferik tutulumla işaret eden myenterik plexusda Lewy cisimleri tesbit edilmiştir (98). Braak ve arkadaşları PH'da gözlenen sinüklein patolojisinin (Lewy cisimciği ve nörit), alt beyin sapından başlayıp kaudo-rostral olarak ilerlediğini ve beyin sapını tamamen tuttukten sonra mezensefalonda SN'ya ulaştığını rapor etmişlerdir (91). PH'da klasik motor bulgulardan önce non-motor belirtilerin görülmesi 'pre-nigral' tutulum dönemine işaret ederek bu teoriyi desteklemektedir (93).

Braak nosyonuna göre PH'nın en erken patolojik bulguları enterik sinir sisteminde oluşur, medulla ve olfaktor bulbusa yayılır ve yıllar sonra da SN ve korteksde patolojik

tutulum görülür (91, 93). Sporadik PH, artık insan sinir sisteminin periferik, enterik, santral sinir sistemi gibi farklı bölgesel sinir hücrelerini de etkileme eğilimi olan multisistemik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (99). En son kabul edilen patolojik sınıflamada; beyinde farklı iki alanda intranöral Lewy cisimciği ve Lewy nöritlerinin görülmesi ve olfaktör, otonomik, limbik ve somatomotor sisteme yaptığı tutulumu göre altı evreye ayrılmaktadır (99). Evre 1-2'de Lewy cisimcikleri medulla oblongata/pontin tegmental alan ve anterior olfaktör yapılarda sınırlıdır. Evre 3-4'de substantia nigra, diğer bazal orta beyin nukleusları ve mezokorteksde sinsi fokuslar oluşmuştur ve hastalık bu dönemde klinik olarak tanı alır. Evre 5-6'da neokorteks tutulumu gerçekleşir (91).



Şekil 1: Braak Evrelemesi ve tutulum bölgelerinin şematizasyonu (91).

BRAAK EVRELEMESİ

Evre 1: N. Vagus dorsal motor nukleus, anterior olfaktör yapılar

Evre 2: Lokus seruleus ve beyin sapı rostrali

Evre 3: Substantia nigra (orta beyin), amigdala, Meynert nukleusu

Evre 4: Temporal mezokorteks

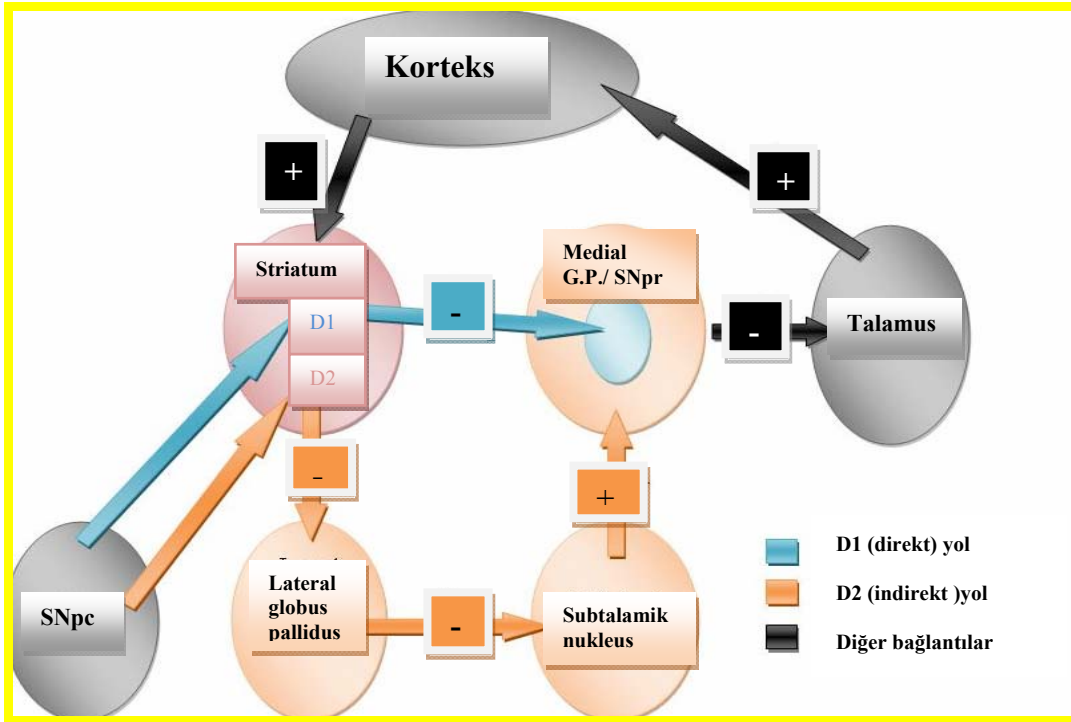
Evre 5: Temporal neokorteks, premotor alan, duysal assosiasyon alanları

Evre 6: Neokorteks: primer motor ve duysal alan

2.6.1. Bazal Ganglionların Anatomisi

Hangi yapıların bazal ganglionlara dahil edilmesi gerektiğine ilişkin açık bir fikir yoktur. Talamokortikal projeksiyonda görevli striatopallidal döngülerde yer alan yapılar; kaudat nükleus, putamen, Globus Pallidumun (GP) eksternal (GPe) ve internal (GPi) segmentidir.

Ayrıca Substansiya Nigra pars kompakta (SNpc), substansiya nigra pars retikulata (SNpr) ve subtalamik nükleus (STN) bazal ganglionlar içinde yer alır. Kaudat ve putamen birlikte corpus striatum olarak adlandırılır ve serebral korteks ile SN'dan gelen projeksiyonların ana hedefini oluştururlar. Putamen ve GP birlikte lentiküler nükleusu oluşturur. GPe ve GPi yapısal ve işlevsel olarak SNr ile homologtur. SNpr ve SNpc orta beyin boyunca red nükleus ventralinde ve serebral pedinküllere rostral uzanır. STN serebrum ve beyin sapı arasındaki sınırda lens-şekilli küçük bir yapıdır (100). Bazal ganglionların, talamus ve korteksle ilişkisi şekil 2'de gösterilmiştir.



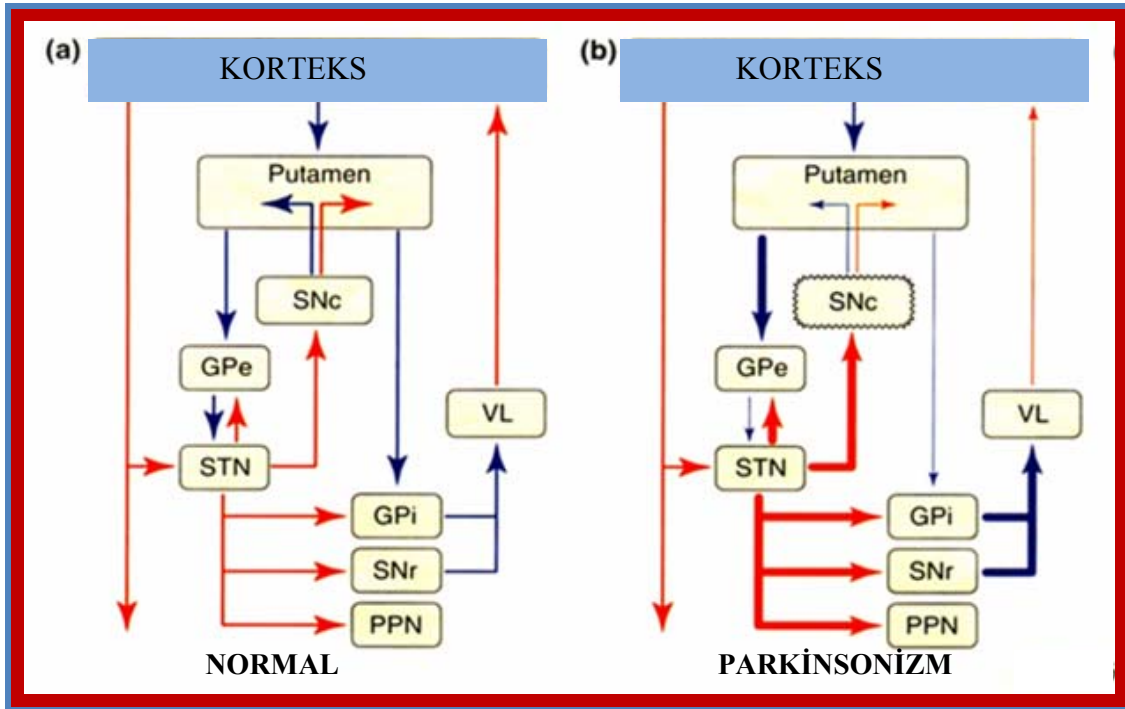
Neuroscientist 2006

2.6.2. Bazal Ganglionlar ve Diğer Yolların İşlevsel Organizasyonu

Striatuma gelen afferent projeksiyonlar serebral korteks alanları, talamusun intralaminar nükleusları, mezensefalik SN ve beyin sapında lokus seruleus ve rafe nükleuslarından gelir. Ayrıca serebral korteksten STN'a uzanan bir projeksiyon vardır. Majör afferent projeksiyonlar; GPi ve SNr'dan talamusa ve pedüncülopontin nükleus gibi beyin sapı nükleuslarına uzanır. GPi ve SNr ventral anterior ve ventrolateral talamik nükleuslara projekte olur. GPi ayrıca santromedian talamik nükleuslara, SNr mediodorsal talamik nükleuslara ve süperior kollikuluslara projekte olur. Ventral anterior ve ventrolateral talamik nükleuslar önce motor sonra premotor kortekse uzanırlar. Bu projeksiyonlar bütünüyle somatotropik olarak

organize olmuşlardır (100). Bazal ganglionlar yoğun internükleer bağlantılara sahiptir. Birbirinden ayrı beş paralel kapalı devre söz konusudur. Bunlar motor, okülomotor, dorsolateral prefrontal, lateral orbitofrontal ve limbik döngülerdir (100).

Motor direkt yolda serebral korteksten gelen eksitator nöronlar putaminal nöronlarla sinaps yapar, bu da sırasıyla GPi'ya ve onun homoloğu olan SNr'ya inhibitör projeksiyonlar gönderirler. GPi/SNr talamusa inhibitör çıktılar gönderir. Direkt yoldaki aktivite talamusu disinhibe ederek eksitator talamokortikal yolu kolaylaştırır ve hedefi olan motor kortekslerdeki aktiviteyi artırır. Böylece direkt yol muhtemelen süre giden motor aktivitenin devamı için işlev gören eksitator kortikal-kortikal devrenin bir parçasını oluşturur. İndirekt yolda, serebral korteksten gelen eksitator aksonlar putaminal nöronlarla sinaps yapar. Bu nöronlar GPe'ya inhibitör projeksiyonlar gönderir. Bu projeksiyonların net etkisi STN'un disinhibisyonudur. STN'un GPi'ya bir eksitator projeksiyonu vardır. İndirekt yoldaki aktivite böylece GPi/SNr'yı eksite eder ve talamokortikal yol inhibe olur. Böylece indirekt yoldaki artmış aktivitenin net etkisi kortikal inhibisyon olarak ortaya çıkar (102). İndirekt ve direkt yol arasındaki normal fizyolojik süreç ve parkinsonizm tablosunda görülen patolojik süreç şekil 3'de gösterilmiştir.



→: Eksitasyon (Glutamat) →: İnhibisyon (GABA)

Şekil 3: (a) Normal sağlıklı insanda fizyolojik süreç (b) parkinsonizm tablosunda izlenen olası patolojik süreç . SNpc: Substantia nigra pars kompakta, GPe: Globus Pallidus eksterna, SNT: Subtalamik nukleus, GPi: Globus pallidus interna, SNpr: Substantia nigra pars retikülata, PPN: Pedunculopontin nukleus, VL: Ventrolateral talamus

Bazal ganglionların bozuklukları genel olarak belirgin bir güçsüzlüğe neden olmasa da baskın motor disfonksiyona neden olur. Direkt primer veya sekonder duyuşal girdi ve beyin sapı düzeyinden aşağı inen majör bir yol olmaması bazal gangliyonların hareketin kontrolünden çok hareketi düzenlediğini düşündürür. Direkt yol hareketinin başlatılması ve sürdürülmesinde önemlidir ve indirekt yol amaç dışı hareketin baskılanmasında rol oynar. PH ile ilişkili nigrostriatal dejenerasyondaki gibi SNpc nöronlarının ölümü direkt yolun aktivitesini azaltır ve indirekt yolun aktivitesini artırır. Bu değişiklikler talamokortikal yolların aşırı inhibisyonu ile beraber subtalamik ve GPi nöronlarının ateşlenme hızında bir artışa neden olur ve PH'da bradikinezinin davranışsal belirtilerini oluşturur (102).

Bazal ganglionlarda yer alan ve eksitator nörotransmitter olarak glutamati kullanan yapılar serebral korteks-striatum, STN-GPi ve talamo-kortikal bağlantılardır. İnhibitör yapılar ise GPe-GPi, GPe-STN ve GPi-talamus arasındaki bağlantılardan oluşur ve bir inhibitör nörotransmitter olan gama-glutamikasit (GABA) kullanır. Dopamin nigrastriatal sistemde uyarılan reseptörün özelliklerine bağlı olarak eksitator veya inhibitör etkilere sahip dual etkili bir nörotransmitterdir (103).

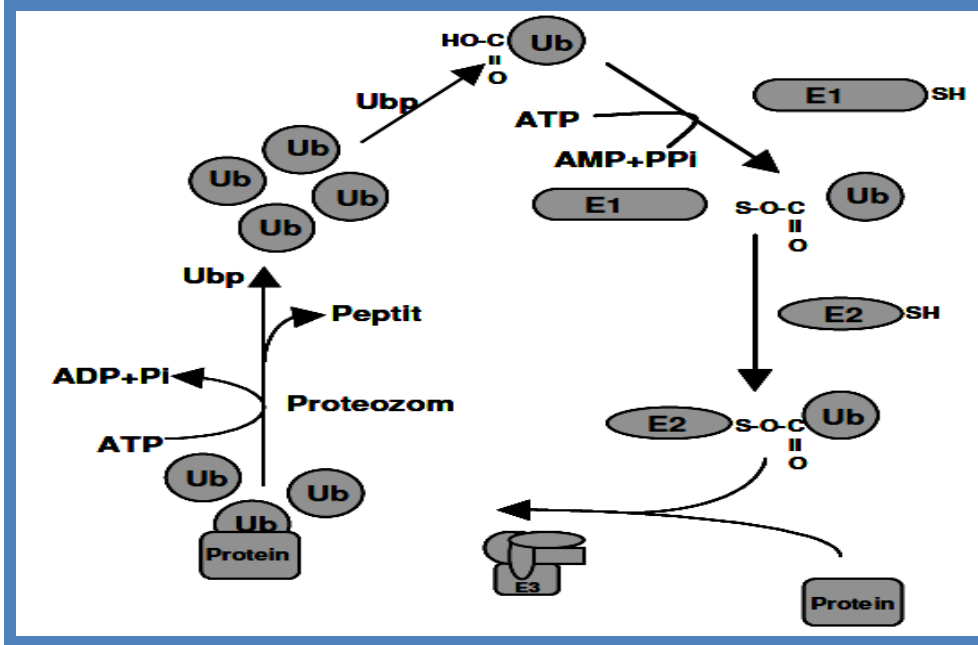
2.6.3. Nörodejenerasyon Mekanizması

Parkinson hastalığındaki nörodejenerasyon mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda farklı süreçler arasında bir kaskadın varlığı ve genetik faktörler, serbest radikal oluşumu, mitokondriyal bozukluklar, eksitotoksisite, nöroinflamasyon, immünregülasyon, anormal protein birikimi ve bilinmeyen diğer faktörlerin bu süreçte rol alabileceği gösterilmiştir (104). Bazı deneysel parkinson modellerinde SN'daki nöronal dejenerasyondan esas olarak apoptozisin sorumlu olduğu gösterilmiştir (105).

Apoptozis; kromatin, sitoplazma, DNA parçacıkları gibi hüresel yapıların apoptotik cisimler içinde sıkıştırılması ile karakterizedir. PH'da nörodejenerasyonda önemli rolü olan diğer bir hücre ölüm mekanizması ise otofajik vezikül oluşumu ile seyreden otofajidir (106). TNF- α , IL-1 β ve INF- γ gibi proinflamatuvar sitokinlerin PH'da artış gösterdiği bilinmektedir (107).

Nörodejeneratif hareket bozukluklarının birçoğu toksik etkilere sahip agregasyona yatkın proteinlerin birikimi ile oluşturulan nöronal hasar özelliğini paylaşır. Bir proteinin normal olarak işlev görmesi için uygun bir şekilde sentezlenmesi ve normal üç boyutlu

yapısına katlanmış olması gerekir. Olgunlaşmamış proteinlerin katlanmasına moleküler şaperonlar yardım eder. Uygun bir şekilde katlanmayan, diğer nedenlerle hasarlı veya kullanım ömürleri biten proteinler ubikuitin-bağımlı proteozom protein degradasyon sistemi tarafından parçalanırlar (108). Ubikuitin-bağımlı proteozomal sistemde proteinlere degradasyon için işaretlenmek üzere önce bir poliubikuitin zinciri eklenir (Şekil 4).



T Klin J Med Sci 2002, 22

Şekil 4: Ubikuitin sisteminin enzimatik reaksiyonları (Ub: Ubikuitin, Ubp: Ubikuitin bağımlı proteaz).

Bu üç aşamalı süreç aktivasyon, konjugasyon ve ligasyondan oluşur ve bu aşamalar sırasıyla E₁, E₂ ve E₃ enzimleri tarafından katalize edilir. Poliubikuitine edilmiş proteinler bir silindirik peptidaz kompleksi olan 26S proteozoma girer. Proteozom eyleminin son ürünleri protein fragmanları ve poliubikuitindir. Poliubikuitin sonra hücrel ubikuitin havuzuna ubikuitin karboksi-terminal hidrolaz-1 enzimi tarafından gerçekleştirilen bir işlem ile parçalanır ve geri kazandırılır (108).

Parkinson hastalığı ile ilgili olarak ortaya çıkan bir diğer kavram; proteolizde bozulmaya neden olan proteozomal fonksiyon bozukluğu ve hasarlanmış veya mutant proteinlerin varlığı ile giden proteozomal bir hastalık olduğu yönündedir. Proteinlerin birikimi çapraz bağlanmalara, agregasyona ve hücre içinde depolanmaya neden olur ve bu da sonuçta hücre içi transportu bozarak hücre ölümüne neden olur. Sonuçta Lewy cisimciği hücre tarafından potansiyel toksik proteinlerin veziküler bir sistem içinde toplanması aracılığıyla alınan koruyucu bir önlem gibi değerlendirilebilir. Çalışmaların bazıları PH beyinlerinden elde edilen dokularda hücrelerin apoptoz yoluyla öldüklerini gösterirken, aynı teknikler

kullanılarak yapılan başka çalışmalar ise SNpc'da bulunan dopaminerjik nöronların ölüm şeklinin apoptoz olmadığını ileri sürmekte, ancak ölüm türünün ne olduğuna da bir açıklama getirmemektedir (51).

Anormal protein agregasyonunu hücre ölümüne bağlayan patojenik olaylar zinciri yoğun araştırma konusudur. Yaşamını sürdüren hücrelerde en dikkat çekici değişiklik agregatlar olmasına rağmen agregatın gerçek rolü henüz bilinmemektedir. Yanlış katlanmış proteinler protofibrilleri oluşturan en zararlı agregatları üretir. Bazı olgularda bunlar spesifik olarak proteinin tipi ile bağlantılıdır ancak diğer çoğu olguda nonspesifik mekanizmalarla yanlış katlanmış proteinler hastalıklara neden olur. Mutant protein vital bir işlevi gerçekleştiremeyecek durumda olabilir veya doğal (wild-type) proteinin işlevine engel olabilir. Mutant protein, protofibriller veya agregatlar, diğer proteinlere müdahale eder. Transkripsiyon faktörleriyle etkileşim bu anlamda özellikle önemlidir. Mutant proteinler kaspazları aktive edebilir veya diğer yollarla apoptotik zinciri aktive ederler. İntraselüler transporta veya diğer vital işlemlere engel olurlar. Protein agregasyonunu artırarak proteozom aktivitesini baskırlarlar. Mitokondriyal işlevi engelleyebilir ve hücreleri eksitotoksositeye karşı hasarlanmaya daha yatkın hale getirirler. Ubikuitin-proteozom sistemine ek olarak lizozomlar otofaji olarak nitelenen bir işlemle intraselüler proteinlerin parçalanmasında önemli rol oynarlar (109).

2.7. TEDAVİ

PH'nın tanısı hareket bozuklukları merkezinde, sadece klinik kriterler temel alınarak % 98.5 oranında doğru ve kesin olarak konulabilmektedir. PH'nın tanısı klinik olarak; bradikinezi, rijidite, istirahat tremoru, asimetri, iyi ve sürekli bir levodopa yanıtı ile desteklenir. PH tedavisini tartışmadan önce klinik semptomların ve progresyonun kantitatif olarak değerlendirilmesinin klinik takibin esas bileşeni olduğunu anlamak önemlidir. Birleşik Parkinson Hastalığı Değerlendirme Ölçeği (UPDRS) PH'nın başlıca motor semptomlarını ölçen en önemli araçlardan biridir ve hastalık seyrinin takibinde de kullanılır (43).

Farmakolojik tedaviyi semptomatik ve nöroprotektif olarak ikiye ayırmak mümkündür. Klinik pratikte kullanılan geleneksel ilaçların sadece semptomatik yarar sağlaması, hastalığın progresyonunu yavaşlatmaması ve yan etkilerinin fazla olması nedeni ile kullanımları sınırlıdır. PH semptomlarının sosyal, ev içi ve mesleki alanlarda kısıtlama yaratacak kadar belirgin olduğu durumlarda kullanılmaları gerektiği düşünülmektedir. Erken tedavinin potansiyel yararları; semptomatik rahatlama ve hastalığın seyrini değiştirmeye yönelik nöron

koruyucu etkilerdir (93). Yıllar süren prelinik dönem ve yavaş progresyon hızı, hastalık etiopatogenezinin anlaşılması ile birlikte nöroprotektif tedavi strajelerini ideal bir hedef haline getirmiştir (110).

2.7.1. Semptomatik Tedavi

Tanı sırasındaki semptomların şiddeti hastalığın süresine ve ilerlemesine bağlıdır. Sıklıkla yaşlılar yanlış olarak PH semptomlarını yaşlanmaya bağlarlar ve daha ağır semptomlar ile başvururlar. Semptomları hafif olmasına karşın sosyal ve meslek yaşamları anlamlı derecede olumsuz etkilenen hastaların da tedaviye ihtiyacı olabilmektedir. Bu hastalarda temel mesele hangi ilacın seçileceğidir. Hastayı tedaviden ne şekilde fayda sağlayabileceği konusunda bilgilendirmek önemlidir. Bradikinezi, rijidite, ağrı ve bazen tremor dopaminerjik ilaçlara çarpıcı yanıt verir. İlaç tedavisi, ilaçların etkinliğinin zamanla azalması, ilaçlara bağlı komplikasyonlar ya da yan etkilerin gelişmesi gibi korkular nedeniyle sıklıkla geciktirilir (110).

2.7.2. Nöroprotektif Tedavi

Semptomatik dopaminerjik tedavinin sınırlı olması, PH'ında nörodejenerasyonu yavaşlatmaya yarayan yeni ilaçların arayışına yol açmıştır. Hasarlı nöronların bozulmuş işlevlerinin normale geri döndürülmesi de dahil olmak üzere hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak, hatta durdurmak amaçlanmıştır.

Nöron koruyuculuk ile ilgili ilaçlardan en çok ilgi çekenler; selejilin, rasajilin gibi monoamin oksidaz (MAO) B tipi inhibitörleri ve ropirinol, pramipeksol gibi dopamin agonistleridir. Bununla birlikte koenzim Q10, büyüme faktörleri, anti-apoptotik ajanlar ve glutamat inhibitörlerinin nöroprotektif etkileri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (93).

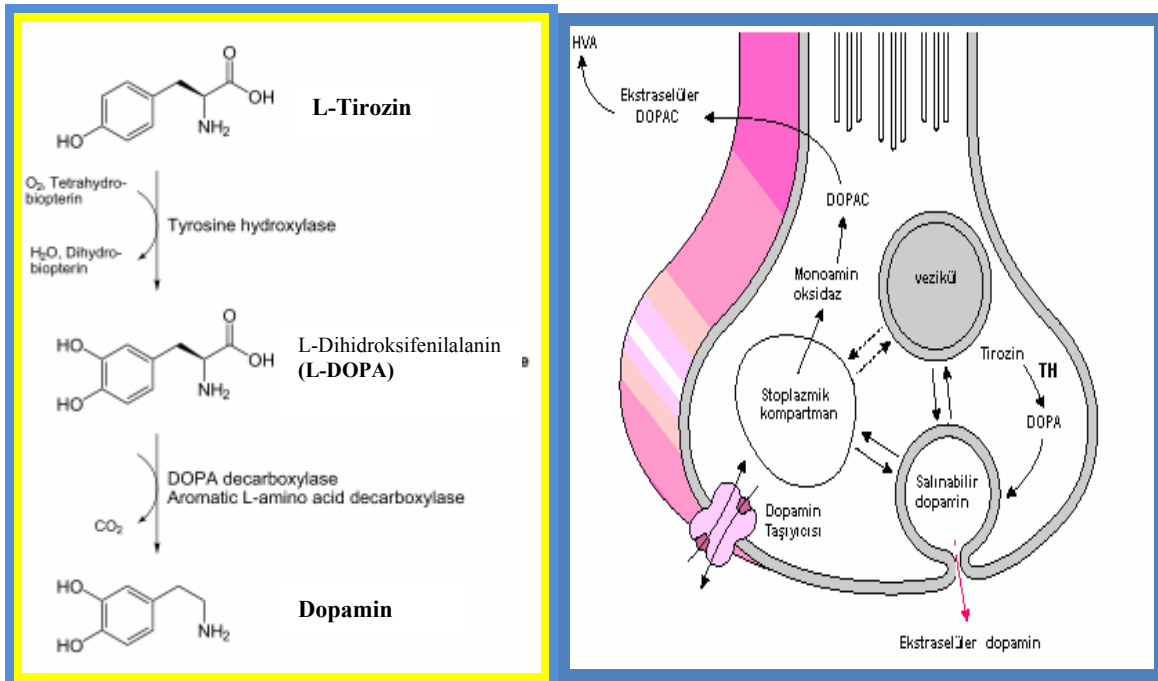
Son yıllarda yapılan çalışmalarda; nikotinin nöroprotektif etkisi ve tedavide kullanılabilirliği tartışılmaktadır. Nikotinin dopamin salınımını artırıp nigrostriatal hasarı azalttığı ve hastalığın progresyonunu yavaşlattığı düşüncesi yaygınlaşmıştır. Bu süreç; direkt etki (reseptör bağımsız) ve reseptör bağımlı nöroprotektif etki şeklinde gerçekleşmektedir (9). Nikotin maruziyeti, kalsiyum bağımlı nikotinic reseptörü uyararak hücre içi kalsiyum miktarını artırır ve diğer antipitotik mekanizmalar, immunmodulator sistemler aktive olur. Böylece toksine bağlı apoptoz inhibe edilir ve nöronal onarım ve rejenerasyon artırılarak nöroproteksiyon sağlanmış olur (93). Nikotinin reseptörleri bypass ederek nöroprotektif etki

göstermesi ise toksinlerin eliminasyonunu arttırması (111), toksinlerin monoamin oksidaz aktivitesinde yaptığı değişimleri baskılaması veya elektron trasport zincirinde kompleks I'ı inhibe etmesi (112) sonucu oluştuğu kabul edilmektedir.

2.8. PARKİNSON HASTALIĞINDA AMİNLERİN YERİ

2.8.1. Dopamin

Dopamin, dopaminerjik ve noradrenerjik sinir uçlarında tirozinden sentez edilir (103). Sentez işlemi tirozinin kandan aktif transport ile nöron içine alınmasıyla başlar (Şekil 5). Tirozin nöron içinde ilk olarak tirozin hidroksilaz enzimi ile etkileşir ve DOPA ortaya çıkar. İkinci adım DOPA'nın DOPA dekarboksilaz enzimi ile etkileşmesi sonucunda dopamin oluşmasıdır. Dopamin daha sonra dopamin hidroksilaz ihtiva eden nöronlarda bu enzim ile etkileşir ve noradrenalin sentez edilmiş olur. Dopaminerjik uçlarda dopamin beta-hidroksilaz enzimi bulunmaz ve sentez zinciri dopaminde sonlanır. Tirozin hidroksilaz enzimi dopamin sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olarak rol oynamaktadır (103).



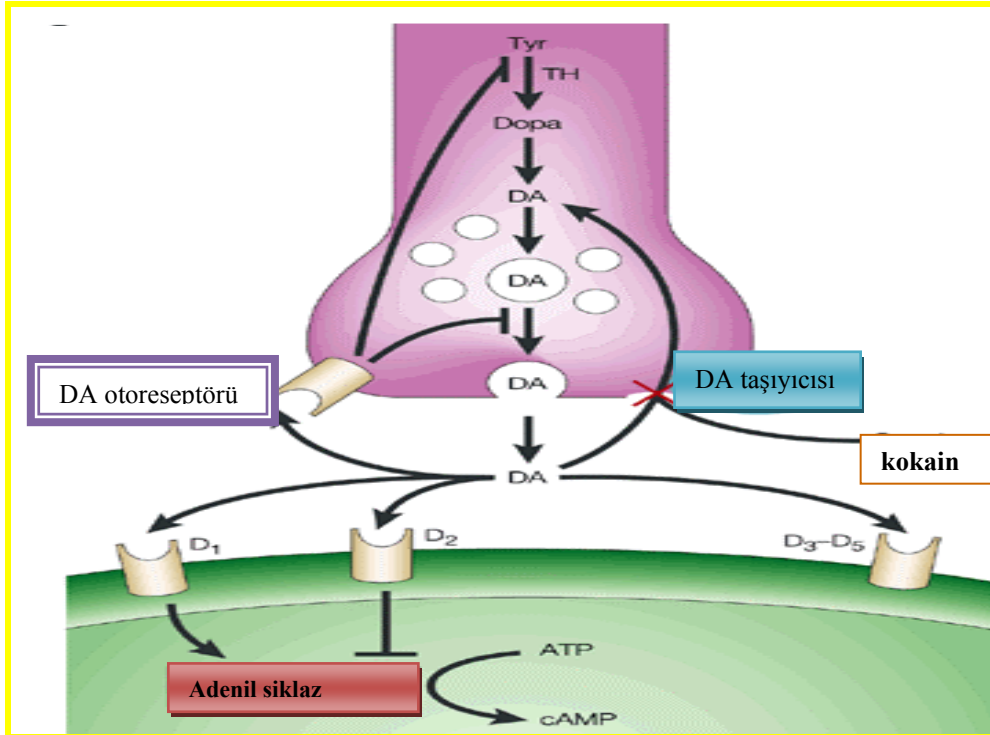
Lippincott-Raven; 1999

Şekil 5: Dopaminin (a) tirozinden sentezlenmesi, (b) sinaptik salınımı, vezikülde depolanması ve yıkılışı (113).

Sinaps aralığında aktif taşıma ile protein taşıyıcıları tarafından nöron ucuna geri alınamayan dopamin, presinaptik uçta monoamin oksidaz (MAO) enzimi, hücre dışında sinaps aralığında bulunan katekol-o-metil transferaz (COMT) enzimi tarafından yıkılarak

homovanilik asite (HVA) dönüştürülür. Dopaminerjik sistem orta beyin ve diensefalonda bulunan nöron gruplarından köken almaktadır (113). SN'dan gelen nöronlar nigrostriatal yolla striatuma ulaşırlar. Bu yol birincil olarak motor davranışın düzenlenmesinde rol almaktadır. Ventral tegmental alandan gelen nöronlar limbik (mezolimbik yolak) ve kortikal (mezokortikal yolak) bölgelere projekte olurlar. Bu yollar ise başlıca bilişsellik ve motivasyon ve ödüllenenin düzenlenmesiyle ilişkilidir. Arkuat dopamin nöronları hipofize uzanarak tüberoinfundibuler yolu oluşturmaktadır. Bu yolak bazı hipofiz hormonlarının salınmasını kontrol etmektedir. Dördüncü yolak ise hipotalamustan başlayıp hipotalamusun çeşitli bölgelerinde sonlanan dopaminerjik nöronlardan oluşmaktadır (103).

Bugüne kadar 5 adet dopamin reseptörü belirlenmiştir (Şekil 6). Dopamin reseptörleri yapısal olarak birbirlerine benzerlerse de biyokimyasal ve farmakolojik olarak iki ana grup içinde incelenmektedirler. Birinci gruptaki dopamin reseptörleri D1 ve D5, ikinci gruptaki dopamin reseptörleri ise D2, D3 ve D4 reseptör alt tiplerini içermektedir. D1 reseptörleri kortikal bölgelerde daha fazla bulunmaktadır. D2 reseptörleri striatumda, D3 ve D4 reseptörleri de limbik bölgede daha yüksek oranda bulunmaktadır. D1 ve D5 reseptörleri adenilsiklazı aktive ederlerken D2, D3 ve D4 reseptörleri buldukları beyin bölgelerine göre adenilsiklazı baskılamakta ya da özgül bir potasyum (K) kanalını aktifleştirmektedirler. D1, D4 ve D5 reseptörleri postsinaptik yerleşim gösterirlerken D2 ve D3 reseptörleri ise hem presinaptik hem de postsinaptik yerleşim göstermektedirler (114).



Şekil 6: Dopaminerjik reseptörler (Nature Reviews Drug Discovery 2002).

D1 reseptörler: En yoğun şekilde caudat nukleus ile putamende, nigrostriatal yolakla ilgili sinapslarda ve ayrıca nukleus accumbens ve olfaktor tüberkülde bulunur (115).

D2 reseptörler: Dopaminerjik agonistlerin ve antagonistlerin ekstrapiramidal sistemle ilgili motor etkilerine ve hipofizer endokrin etkilerine, ayrıca kısmen emosyonel ve kognitif etkilerine aracılık eden reseptörlerdir. Striatumda ve ön hipofizde bulunan fonksiyonel olarak önemli ana dopaminerjik reseptörlerdir (115).

D3 reseptörleri: D2 reseptörlere yapıca yakından homoloji gösterirler. D2 reseptörlere benzer ve onlar gibi adenilat siklazı inhibe ederler. Beyinde dağılımları n. accumbens, olfaktor tüberkül ve striatumun ventral kısmı gibi limbik yapılara kısıtlıdır. Bu reseptörlerin emosyonel kognitif süreçlerin dopaminerjik kontrolüne aracılık eden ana reseptörler olduklarına inanılmaktadır (115).

D4 reseptörleri: D3 reseptörleri gibi, D2 reseptörlere yapıca yakın bir homoloji gösterirler. Beyindeki dağılımları çok kısıtlıdır. Esas olarak az sayıdaki limbik yapılarda bulunurlar. Striatum, nöronlarında pek bulunmazlar. Bu durumun, klozapinin tipik nöroleptiklerden farklı olarak daha az ekstrapiramidal yan etki yapmasının nedeni olduğuna inanılmaktadır (115).

D5 reseptörleri: D1 reseptörleri gibi adenilat siklazı aktive eden, moleküler yapısı ve farmakolojik etkenlere karşı davranışı D1 reseptörlerinkine yakından benzeyen reseptörlerdir. Striatumda pek bulunmazlar, hipokampus ve diğer bazı limbik sistem alanlarında hipotalamus ve talamus nöronlarında yoğun olarak bulunurlar. Fonksiyonel rolü henüz aydınlatılamamıştır (115).

2.8.1.1. Dopaminerjik yolaklar

Histokimyasal incelemeler SSS'de dopaminerjik nöronların noradrenerjik olanlara oranla çok daha fazla bulduklarını göstermiştir. Beyindeki dopaminerjik nöronların başlıca beş yolak oluşturdukları sıçanlarda gösterilmiştir (116).

Nigrostriatal yolak: SN'nin zona compacta bölgesindeki nöronların aksonlarından oluşan bu yolak diensefalonda medyal ön beyin demeti içine girer ve corpus striatum (n. caudatus ve putamen) ile globus pallidumdan oluşan bazal ganglionlar içinde sonlanır. Dopaminerjik yolakların en büyüğüdür. C.Striatum'daki uçları beyindeki total dopaminin yaklaşık %75'ini içerir. Bu yolağın nöronlarının ve striatumdaki uçlarının dejenerasyonu Parkinson hastalığının oluşmasında rol oynar. SN'daki dopaminerjik nöronların dendritlerinin ucundan da dopamin salıverilir ve bu madde dendritler ve nöron somaları üzerindeki oto reseptörleri aktive ederek

dopamin saliverilmesini frenler; ayrıca çevredeki non-dopaminerjik nöronlarda ve sinir uçlarında da inhibisyon yapar (116).

Mezolimjik ve mezokortikal yolak: Mezensefalonun ventromedial tegmentumunda (VTA) s. nigra yakınındaki nöron topluluğunun (sıçanda A10 alanı, insanda n. paranigralis) aksonlarından oluşur. Kısmen limbik sistemde (özellikle n.akumbens, amigdala, stria terminalis ve bulbus olfaktoriusda) ve kısmen de beyin korteksinde (mezial frontal korteks, gyrus singularisin ön kısmı ve entorinal korekste) sonlanır. Mezolimjik yolağın lokomotor etkinliğin başlatılmasında ve sürdürülmesinde, uyanç oluşmasında ve bazı kognitif fonksiyonlarda nigrostriatal yolağın ise lokomasyonun eşgüdümünde, optimizasyonunda ve postürün düzenlenmesinde rol oynadığı sanılmaktadır (116).

Tuberoinfundibuler yolak: Hipotalamusta, arkuat nukleusun ön kısmından başlar ve hipotalamusun daha kaudal kısmında bulunan eminentia mediada sonlanır. Bu yolaktaki dopaminerjik aksonların ucundan salgılanan dopamin, portal sistemle ön hipofize gider. Nörohormon görevi yapar. Nöroendokrin düzenlemede rol oynar (116).

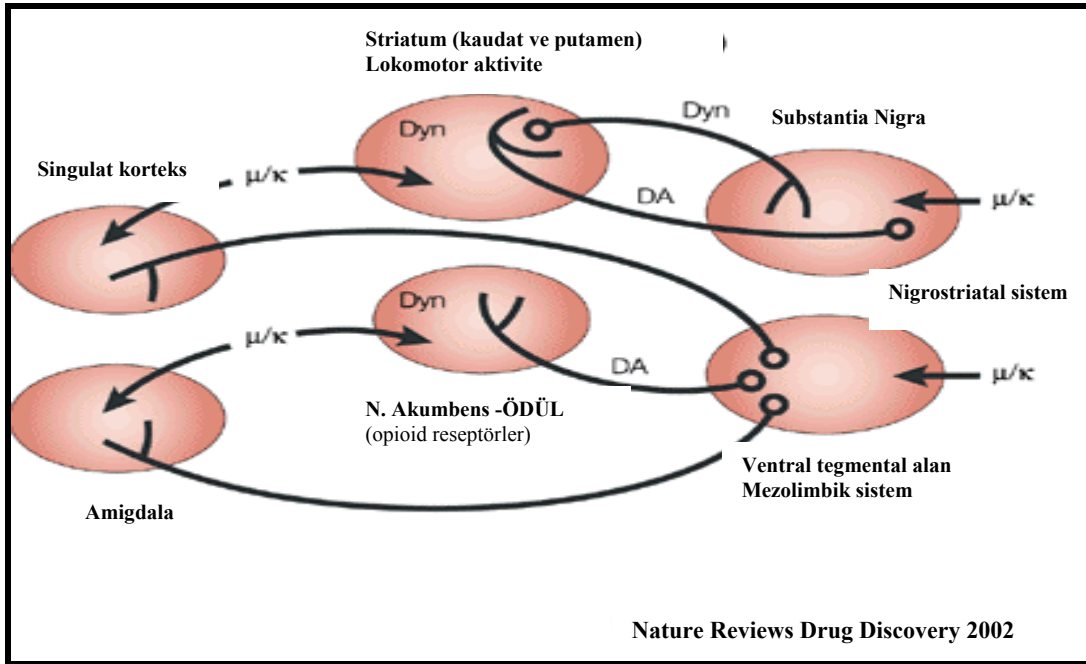
Hipotalamospinal ve nigrospinal yolaklar: Omurilikte sonlanan inisi yolaklardır. Dopaminin omurilikte en fazla lateral boynuzlarda olması ve bu yerin pregangliyonik sempatik nöronlardan oluşması gibi veriler, hipotalamospinal yolağın otonomik sinir sisteminin düzenlenmesine katkıda bulunabileceğini düşündürür (116).

2.8.1.2. Dopaminin Fizyolojik Rolü

Dopaminerjik nöronların affekt ile ilgili olaylarda, lokomotor fonksiyonun başlatılmasında, eşgüdümünde ve optimizasyonunda ve ön hipofiz salgılama fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli katkılarının bulunduğunu gösteren kanıtlar elde edilmiştir (114).

Somatomotor fonksiyonlarının ve çizgili kas tonusunun normal düzeyde sürdürülmesi için bazal ganglionlarda dopaminerjik/kolinerjik dengenin belirli bir düzeyde tutulması gereklidir. Nigrostriatal yolak, eksitator nitelikteki kortikostriatal glutamerjik akson uçlarını inhibe eder. Birbiri ile etkileşen bu sistemlerin ortak çabasıyla oluşan motor koordinasyonda ve sensorimotor integrasyonda dopaminerjik sistemin katkısı çok büyüktür (103).

Mezokortikolimbik dopaminerjik yolak ve onun innerve ettiği n. accumbens gibi limbik yapıların hepsinin (şekil 7) bağımlılık yapan (kokain, amfetamin) ilaçların ve ayrıca nikotin, alkol ve hipnosedatif ilaçların keyif verici etkisi ile ilgili nöronal devrelerin ortak bölümünü teşkil ettiğine inanılmaktadır (114).



Şekil 7: Nigrostriatal ve mezokortikolimbik dopaminerjik sistemde ödül ve lokomotor aktivite. (dyn: dinorphin, □, □: opioid reseptörler)

2.8.1.3. Dopamin ve Asetilkolin İlişkisi

SSS'de asetilkolin yaygın olarak bulunan bir nörotransmitterdir. Asetilkolin, asetilkoenzim A ve kolin molekülünün kolinasetiltransferaz ile sentezinden oluşur. Beyinde en fazla bulunduğu yer; Meynert'in bazal nükleusudur. Asetilkolin (ACh), küçük moleküllü eksitator bir nörotransmitter olup, çok farklı fonksiyonları olduğu bilinmektedir. Asetilkolini bir nörotransmitter olarak kullanan nöronlara kolinerjik hücreler adı verilir. Santral sinir sistemi içinde kolinerjik hücrelerin en sık buldukları beyin bölgeleri, bazal ön beyin, striatal kompleks, diensefalon, pontomezensefalik alan ve medulladır. Bu farklı beyin alanları aynı zamanda ACh için farklı fonksiyonların varlığını sağlar. Ağrı, nöroendokrin fonksiyonlar, REM uyku döngüsünün düzenlenmesi, öğrenme ve bellek işlemleri bu fonksiyonlardan bazılarıdır. Asetilkolinin hedef dokudaki bağlanma bölgeleri muskarinik ve nikotinik reseptörler olarak ayrılabilir (117).

Çizgili kasların normal tonus ve kasılmalarında kontrol görevi bulunan corpus striatumda asetilkolin ve dopamin beynin diğer pek çok yerlerine göre fazla bulunur. Bu iki endojen madde bu bölgedeki sinapslarda impuls aşırımında nöromodülatör rolü oynarlar. Bunların striatumdaki nöronlar üzerinde zıt yönde etkileri vardır. Nigrostriatal dopaminerjik nöronlar intrastriatal kolinerjik nöronları inhibitör baskı altında tutarlar. Parkinson hastalarının

striatumunda kolinerjik ve dopaminerjik sistemlerin etkinliği arasındaki denge kolinerjik etkinliğin lehine olarak bozulmuştur. Bundan dolayı Parkinson hastalığının tedavisinde esas itibariyle, ya dopaminerjik etkinliği artıran ilaçlar veya SSS'ne girebilen ve striatumda kolinerjik etkinliği azaltan anti kolinerjik ilaçlar ya da bunların kombinasyonu kullanılır (103).

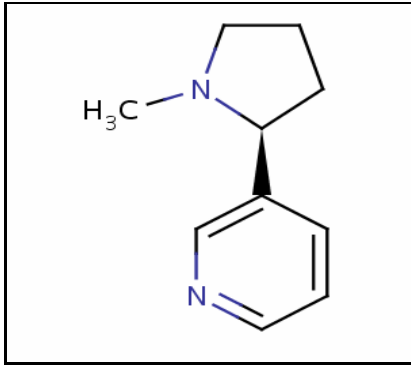
Bu klasik bilgileri son elli yılda yapılan çalışmalar daha ileri noktaya taşımıştır. Anatomik çalışmalar striatumda dopaminerjik ve kolinerjik sistemler arasında kapalı bir devre olduğunu açıkça göstermektedir ve striatal nöronların yaklaşık %2'sini kolinerjik internöronlar oluşturmaktadır (28). Striatal kolinerjik nöronlar asetilkolin sekresyonu yapar ve striatumdaki asetilkolin reseptörleri ile ilişki kurarlar (118).

Striatumda iki ana asetilkolin reseptör grubundan muskarinik reseptörler; asetilkolin ve muskarin tarafından uyarılırken, nikotinic reseptörler; asetilkolin ve nikotin tarafından uyarılırlar (119). Muskarinik reseptörler striatal GABAerjik nöronlar ve kolinerjik internöronlarda G-protein bağlı olarak bulunurlar. Bu reseptörlerin stimülasyonu ile motor fonksiyonlar module edilir. Aslında L-dopadan önce PH'nın semptomatik tedavisinde muskarinik reseptör blokörleri kullanılmıştır (120). Nikotinic reseptörler striatumda GABAerjik ve kolinerjik nöronlarda bulunur ve nigrostriatal dopaminerjik terminallerin presinaptik uçlarında ve kortikal glutamaterjik afferentlerde lokalizedir (118).

Son çalışmalarda deneysel modellerde presinaptik nikotinic reseptörlerin dopamin salınımını regüle ettiği gösterilmiştir (121). Bu çalışmalar selüler zeminde striatal dopaminerjik ve nikotinic sistemler arasındaki ilişkiye işaret etmektedir. Rodent modellerde dopamin reseptör antagonistleri verilerek nikotinin lokomotor aktiviteye etkisinin değiştii gösterilmiştir (122). Nikotin ve nikotin agonistlerinin hayvanlarda nigrostriatal hasar sonucu oluşturulan motor fonksiyonlara etkili olması, Parkinson hastalığının tedavisinde nikotinin faydalı olabileceği fikrini oluşturmuştur (123).

2.8.2. Nikotin

Tütün bitkisinin yapraklarından elde edilen bir alkaloiddir. İlk zamanlar Amerika kıtasında yetiştirilen bu bitki 16. yy da Avrupa'ya getirilmiş ve oradan diğer ülkelere yayılmıştır. Kurutulmuş tütün yaprağında %0.5-8 oranında bulunur ve toplam alkaloidin %95' ini oluşturur. Diğer alkaloidler, nornikotin, anabazin, kotinin, nikotin N-oksit ve diğerleridir (124).



Şekil 8: Nikotin molekülü (C₁₀H₁₄N₂)

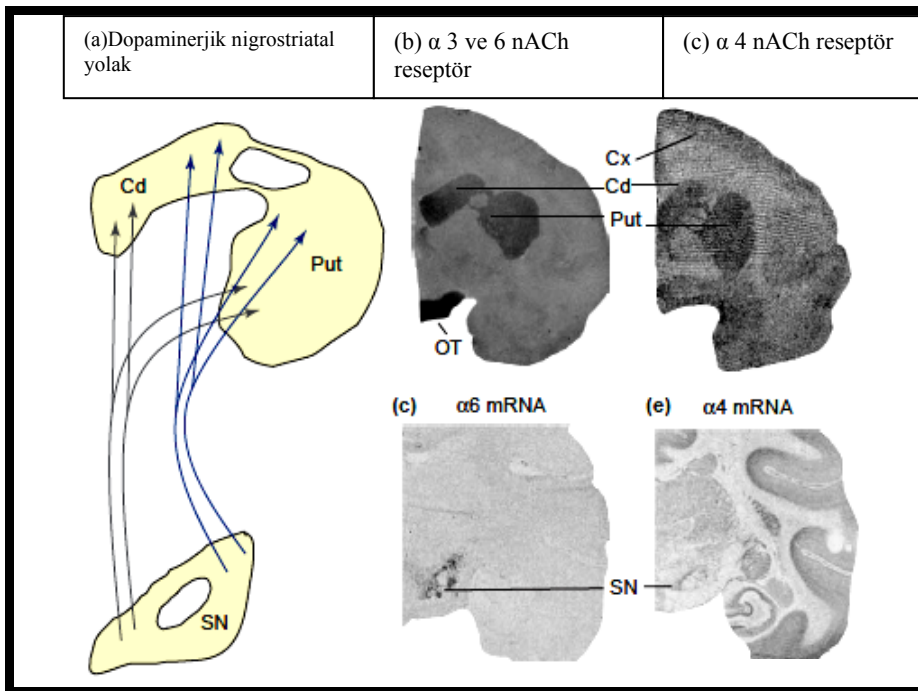
Kimyasal yapısı bakımından, bir piridin halkası ile N-metil pürolidin halkasının kombinasyonundan ibaret bir tersiyer amindir (Şekil 8). Suda fazla çözünür. Ancak beyne oldukça hızlı geçebilecek kadar lipofiliktir (124).

2.8.2.1. Farmakokinetik Özellikler

Nikotin ufak molekülü ve lipofilik bir madde olması nedeniyle cilt ve mukozalardan kolayca ve hızlı absorbe edilir. Bronşöller ve özellikle alveöllerin teşkil ettiği toplam yüzeyin büyüklüğü ve orada fizyolojik pH'daki sıvıda çözünmesi nedeniyle, nikotin akciğerlerden, dumanın pH'sı ne olursa olsun kolayca ve hızlı bir şekilde absorbe edilir. Vücuda giren miktarın %10-20'si idrardan değişmeden atılır. İnsanlara 20 ug/kg i.v. nikotin enjekte ederek yapılan farmakokinetik incelemeler, bu maddenin plazma düzeyinin önce hızlı bir şekilde düştüğünü ve daha sonra yavaş bir şekilde azaldığını göstermiştir. Devamlı sigara içenlerde karaciğer mikrozomal enzimleri indüklenir. Kişinin nikotine maruz kalma derecesi genellikle plazma kotinin düzeyi ölçülerek değerlendirilir (119).

2.8.2.2. Etki Mekanizması

Nikotin, hedef hücrelerdeki özgül etkilerini, nikotinik tipteki asetilkolin reseptörlerini aktive etmek suretiyle yapmaktadır. Nöronal nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChRs), pentamerik yapıda ligand bağımlı α veya α ve β subünitlerinden oluşan iyon kanallarıdır. Memelilerin beyinde α alt birimlerinin en az dokuz ($\alpha 2$ - $\alpha 10$) ve β alt-birimlerinin en az üç ($\beta 2$ - $\beta 4$) izoformu vardır (125).



Şekil 9: nACh-R'nin bazal gangliyalarda farklı subtiplerinin çok çeşitli yerleşim alanları. Cd: kaudat nukleus, Cx: korteks, Put: putamen, OT: Optik traktus, SN: substantia nigra (9).

Beyinde α ve β alt birimlerinin izoformlarının çeşitliliği nedeniyle reseptörler ileri derecede heterojendirler ve çok sayıda reseptör alt tipi vardır. Bunların dağılımı ilaçlara duyarlılığı ve fonksiyonel rolleri de farklıdır. Bu nedenle nikotin MSS'nin çeşitli fonksiyonlarını etkiler ve oldukça değişik etkiler yapar (Şekil 9). Farelerde $\beta 2$ subünitinin hasarlandırılması sonucu nikotinin davranışsal etkileri ortadan kalkmıştır ve ventral tegmental alanda nikotinin yaptığı etkilerin yeniden sorgulanması gündeme gelmiştir (126).

Nikotin kronik uygulaması paradoksik olarak, beyinde yüksek afiniteli nikotin reseptörlerinin sayısını artırır. Bu durum, agonistlere uzun süreli maruz kalma sonucu, diğer tür reseptörlerde, reseptör sayısında azalma olduğu şeklindeki genel gözlemlere uymaz.

Nikotinik reseptör sayısının artması, yeni reseptör sentezinin artmasına değil, düşük afiniteli nikotinik reseptörlerin yüksek afiniteli şekle dönüşmesini posttranslasyonel etki ile attırmasına bağlıdır. Nikotin sinir uçlarını kendi reseptörlerini aktive ederek depolarize etmek suretiyle bu uçlarda voltaja bağımlı kalsiyum kanallarını açar ve böylece nöromediyatör salıverilmesini arttırır. Bu durumda nikotinin nöronal etkilerinin fazla çeşitli olmasına katkıda bulunur (124). Nikotin, reseptörüne bağlanınca reseptör molekülünde allosterik değişiklikler meydana gelir ve reseptör, farklı fonksiyonel veya konformasyonel durumlara girer. Bunlar, aktive durum, üç farklı desensitize durum ve istirahat durumudur (124).

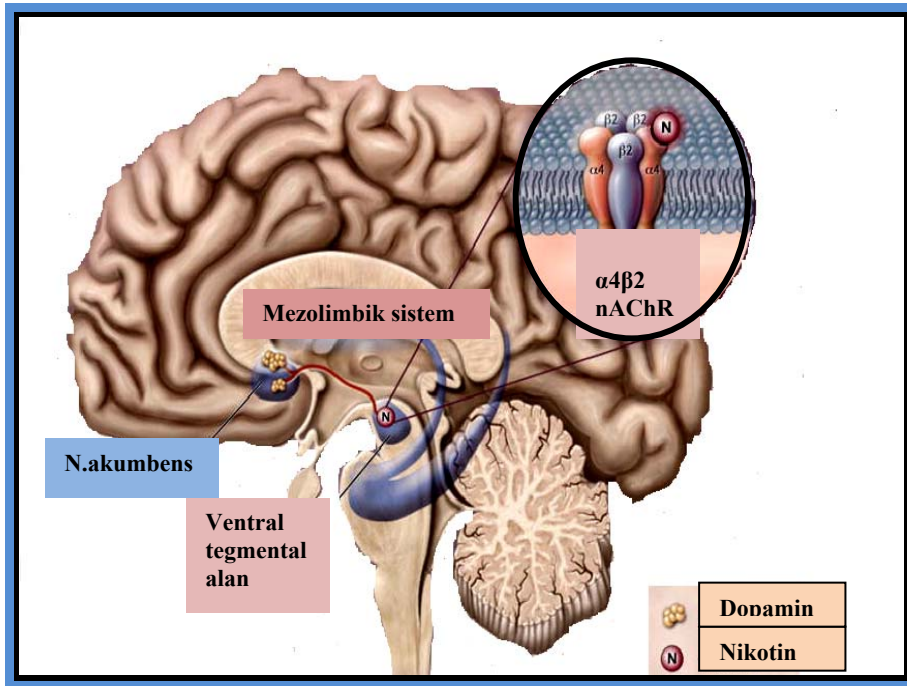
Nikotin, santral sinir sisteminde doz bağımlı olarak ve kişinin duyarlılığına göre değişen çeşitli etkiler gösterir. Bağlanma yerleri MSS'de en yüksek sayıda korteks, talamus, interpedinküler nukleusa ve fazla sayıda olmak üzere amigdala, septum, beyin sapının motor nukleusları ve lokus seruleusta bulunur (119). Sigara içenlerde oluşan plazma düzeylerine uyan düşük dozlarda psikomotor stimulan etki yapar. Buna bağlı olarak vijilansta artma oluşturur ve psikomotor refleksleri hızlandırır. Deney hayvanlarında lokomotor hareketleri stimüle eder. Nikotin, bellekle ilgili olayları fasilite eder. İştah ve iritabilitede azalma yapar ve tremor oluşturabilir. Deney hayvanlarında davranışsal uyanç yapar. Elektroensefelografide buna uyan bir hızlanma, yani desenkronizasyon olur. REM uykusunu artırır. Beyinde nikotinik kolinerjik sistem ağrı yollarının modülasyonunda ve ısının kontrolünde de rol oynar. Çizgili kaslarda santral kaynaklı hafif gevşeme yapar. Nikotin yüksek dozda konvülsiyon oluşturur (124). Kronik sigara içicileri, sigara içmenin keyiflerini arttırdığını ve öfke, gerginlik, depresyon ve streslerini azalttığını belirtirler. Bu durum, tiryakilerde sigara ile onun yoksunluğuna ait sıkıntıların giderilmesine veya sigara içmenin direkt psişik etkilerine bağlı olabilir. Tiryakinin duman inhalasyon kalıbını sigaranın nikotin içeriğine göre değiştirmeleri ve diğer bazı tür gözlemler, sigara içmenin keyif verici etkilerinin önemli ölçüde nikotine bağlı olduğunu gösterir (119). Özel koşullar altında yapılan uzun süreli deneylerde deney hayvanlarının, çoğu zaman nikotin solusyonunu intavenöz yolla kendi kendilerine yineleyerek verdikleri bulunmuştur. Devamlı sigara içenlerde olduğu gibi nikotine yinelenerek sık bir şekilde maruz kalanlarda santral ve periferik sinirsel etkilerine karşı farmakolojik tolerans gelişebilir (119).

Epidemiyolojik incelemelerin sigara içenlerde Parkinson hastalığı insidansının içmeyenlere göre yaklaşık %50 düşük olduğunu göstermeleri (127) ve nikotinin beyinde dopaminerjik uçlardan dopamin salıverilmesini arttırdığının (128) bulunması bu maddenin Parkinson hastalarında denenmesine yol açmıştır.

2.8.2.3. Parkinson Hastalığında Nikotinin Yeri

Hayvan çalışmaları, sigara kullanımının beyindeki dopamin salınımında akut, kronik ve pulsatil maruziyet sonrası farklı etkiler ortaya çıkardığını göstermektedir (129). Nikotinik kolinerjik reseptörlerin uyarımıyla, beyinde dopamin gibi bazı nörotransmitterlerin salınımının ortaya çıktığı bilinmektedir (128). Dopamin ise haz alma, nikotini yeniden kullanma isteği ve diğer ilaçların da kötüye kullanımına sebep olabilmektedir (130).

DeneySEL olarak dopaminerjik nöronlarda lezyon oluşturulan ratlarda nikotini kendi isteği ile tüketme davranışı azalmıştır. Nikotin mesolimbik alan, corpus striatum ve frontal korteksde dopamin salınımına neden olmaktadır (131). VTA ve N. Akumbensteki dopaminerjik nöronlar ilaca bağlı haz alma ve ödül reaksiyonunda kritik rol oynamaktadır (119). Nikotinin mezolimbik sistemde dopamin ile olan ilişkisi şekil 10'da gösterilmiştir.



Benowitz , N Engl 2010

Şekil 10: Mezolimbik alanda nikotin-dopamin ilişkisi (119).

Bununla beraber epidemiyolojik çalışmalara bakıldığında sigara içenlerde PH'a daha az rastlandığı tespit edilmiştir (9). Nikotinin postensefalitik parkinsonizm, erken yaşta başlayan Parkinson (17, 18) ve distonide (132) semptomatik yarar sağladığı ileri sürülmektedir.

Aslında PH ve çevresel etkenlere bakıldığında bu sonuç daha da güçlenmektedir. Sigara binlerce kimyasal madde içerdiği halde nikotin iki nedenden dolayı bu süreçten sorumlu tutulmaktadır. Birincisi, nikotin PH'da hasarlanan striatal dopaminejik nöronları uyarmakta ikincisi ise nöronal hasarlanmaya karşı koruyucu etki oluşturmaktadır. Bu etki yıllık tüketilen sigara miktarı ve dozuna bağlı olarak değişmektedir (15, 21).

Dikkat, hafıza ve yürütme işlevlerinin hızında da nikotinin pozitif etkisi mevcuttur (133, 134). Doğu ve arkadaşları parkin delesyonu olan parkinsonizmlili bir hastada bir filtreli sigara içimi sonrası semptomlarda dramatik gerileme kaydetmişlerdir (135). İlginç olarak bir çalışmada yüksek doz nikotin ile dramatik iyileşme yanıtı elde edilmiştir (136). Hanağası, jüvenil başlangıçlı Parkinson hastasında tek bir sigara içimi sonrası psikotik bulgular ve bradikinezi de anlamlı düzelme göstermiştir (9, 10, 137).

Prospektif çalışmalarda bu ters ilişkinin sadece mortalite ile ilgili olduğu savunulmakta; hastaların sigaraya bağlı hastalıklar nedeni ile erken yaşlarda ölmelerinin PH gelişmesine olanak sağlamadığı ileri sürülmektedir (15). Sadece bir yayında insidansdaki bu düşüklüğün yaşın ilerlemesine bağlı olmadığı ve sigara içmenin PH'nın başlamasını geciktirdiği ileri sürülmektedir (138). Son yıllardaki çalışmalar ise PH riskinin sigara içimi ile azaldığını göstermekte ve yazarlar "sigara içmek koruyucudur" görüşünde birleşmektedirler (139).

Motor bulguları insandakine çok benzeyen maymun parkinson modelinde L-dopaya beklendiği gibi çok iyi yanıt alınırken L-dopa almayan maymunlarda nikotinin iyileştirici bir fonksiyonu olmamıştır. Fakat aynı çalışmada nikotinin L-dopanin neden olduğu diskinezik hareketleri %50 oranında azalttığı gösterilmiştir (140).

Bununla birlikte, klinik takiplerde azımsanmayacak kadar çok sayıda Parkinson hastasının yıllar önce sigara kullanmayı bıraktığı görülmektedir. Son yıllarda tanımlanan 'premotor' ve ya 'preklinik' dönem ile eş zamanlı olabilecek sigarayı bırakma davranışı biraz daha ayrıntılı sorgulandığında hastaların bu davranışı tam olarak açıklayamadığı ortaya çıkmaktadır. Sigara bağımlılığı sonrası nedensiz sigarayı bırakma davranışının premotor fazda görülen içe kapanma, kişilik değişikliği, ajitasyon gibi davranışsal değişikliklerle olan ilişkisi net olarak bilinmemektedir. Nöroanatomik olarak bağımlılıktan sorumlu tutulan mezolimbik ve mezokortikal dopaminerjik sistemlerin PH'da presemptomatik dönemde ne kadar etkilendiği halen araştırma konusudur.

2.8.2.4. Nikotinin Nöroprotektif Etki Mekanizması

Nikotinin dopamin salınımını arttırıp nigrostriatal hasarı azalttığı ve hastalığın progresyonunu yavaşlattığı düşüncesi yaygınlaşmıştır. Bu süreç; direk etki (reseptör bağımsız) ve reseptör bağımlı nöroprotektif etki şeklinde gerçekleşmektedir (12). Pestisidler ve toksinlere maruziyet nigrostriatal hasara yol açmaktadır. Nikotinin direkt etkisi sonucu dopamin salınımı artar böylece dopamin sinir terminallerine girişte toksin ile yarışıp nigrostriatal hasarı azaltır (111). Reseptör aracılı nöroprotektif etkisini ise özellikle $\alpha 4$ nAChRs üzerinden yaptığı düşünülmektedir (141). Nikotin maruziyeti, kalsiyum bağımlı nikotinic reseptörü uyararak hücre içi kalsiyum miktarını arttırır ve diğer antipitotik mekanizmalar, immunmodulatuvar sistemler aktive olur. Böylece toksine bağlı apoptoz inhibe edilir ve nöronal onarım ve rejenerasyon arttırılarak nöroproteksiyon sağlanmış olur (21). Nikotinin reseptörleri bypass ederek nöroprotektif etki göstermesi ise toksinlerin eliminasyonunu arttırması (111), toksinlerin monoamin oksidaz aktivitesinde yaptığı değişimleri baskılaması veya elektron trasport zincirinde kompleks I'ı inhibe etmesi sonucu oluştuğu kabul edilmektedir (21, 112).

Nikotin, striatal ve mezolimbik dopaminerjik sistemi aktive etmekte ve MPTP ile nigrostriatal dejenerasyon yapılan hayvanlarda korteks, striatum ve mezensefalik nöronlarda glutamatın neden olduğu nörotoksisiteye karşı koruyucu rol oynamaktadır (12, 140, 141). Ayrıca nigrostriatal dopaminerjik terminallerden dopamin salınımını module eder (13, 118). Farelerde yapılan bir çalışmada nigrostriatal hasar ile oluşturulan dopamin salınımindaki düşüğe paralel olarak nACh reseptörleri de azalmıştır (142).

Tüm bu çalışmalar PH'da nöroprotektif tedavi arayışlarına ışık tutmakla birlikte nikotinin PH tedavisindeki rolü net olarak aydınlatılamamıştır. Halen yapılan çalışmaların çoğunda pozitif etkilerden bahsedilse de çelişkili sonuçlar mevcuttur (10, 143, 144, 145, 146). Nikotinin Parkinson hastalarındaki etkilerini incelemek amacıyla ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

2.9. PARKİNSON HASTALIĞI DENEYSEL HAYVAN MODELLERİ

Parkinson hastalığının patogenezinin anlaşılması ve tedavisinin geliştirilmesi amacıyla kullanılan modeller PH kliniğini tam anlamıyla yansıtmamaktadır. İn vitro hücre kültürlerinde mikroçevresel ortam tam olarak sağlanamadığından hayvan modelleri hücre modellerine oranla daha değerlidir. Bu yüzden hayvan modelleri PH'da daha ön plana çıkmaktadır.

Parkinson hastalığı modelleri oluşturmak için, nigrostriatal dopaminerjik yolağı selektif olarak zedeleyen toksinler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu modeller sistemik toksin uygulamasıyla da elde edilebilir, ancak genel olarak toksinlerin nigrostriatal yolağa doğrudan streotaktik enjeksiyonu ile gerçekleştirilir.

En sık kullanılan ve iyi karakterize edilmiş PH modeli, unilateral 6-hidroksidopamin (6-OHDA) ile oluşturulan rat modelidir. İlk kez 1968'de ilk Parkinson hayvan modelini tanımlayan Ungerstedt, 6-OHDA'nin SNpc'ya enjeksiyonunu yapmış ve nigrostriatal dopaminerjik sistemde oluşan anterograd degenerasyonu göstermiştir (147). Lokal nörotoksin olarak 6-OHDA'nin substantia nigra ya da medial önbeyin demetine (MFB) unilateral enjeksiyonu, PH'nin hayvan modelinde prototip olarak kullanılan en sık yöntemdir (148). Toksin kan beyin bariyerini geçemez. Klasik olarak SNpc ve/veya MFB içine enjeksiyonu ile oluşturulan masif komplet bir lezyon sonrası 12 saat içinde nöronlar ölmeye başlar. Buna paralel olarak 2-3 gün içinde dopamin seviyesi düşer (149). Bunun sonucunda bir hemisferdeki nigrostriatal yolak, günler içinde dejenerasyona uğrar ve ilişkili olarak denerve striatumda postsinaptik dopamin reseptör süpersensitivitesi gelişir. 6-OHDA, ayrıca striatuma da doğrudan uygulanabilir, buradan retrograd taşınma ile substantia nigraya iletilir ve dopaminerjik nöronların ölümüne neden olur. Bu uygulama PH'nin progresif modeli olarak kabul edilmektedir (150). Bu model PH'da semptomatik tedavi geliştirilmesi ve nöroprotektif ajanların araştırılmasında kullanılmaktadır.

Nigrostriatal yolağın 6-OHDA ile ünilateral olarak zedelenmesini takiben hayvanlar direkt ya da indirekt olarak etki gösteren dopaminerjik ajanlar verildiğinde, dönme davranışı ve benzeri motor stereotipik hareketler sergilemektedir (151).

Erken evre Parkinson hastalığının premotor davranışsal semptomlarını göstermek üzere son yıllarda bilateral dorsal striatumda VTA'ya 6-OHDA infüzyonu ile SNC'daki dopaminerjik terminallerde parsiyel hasar oluşturmayı hedefleyen yeni bir model tanımlanmıştır (16). Bu

model inkomplet progresif nigrostriatal hücre kaybı ve parsiyel striatal dopamin deplesyonu yaparak hastalığın prelinik erken evresini temsil etmektedir (152).

6-OHDA'nin toksik etkisinin makrofaj ve mikrogliaların rol oynadığı reaktif inflamatuvar reaksiyon sonucu oluştuğuna inanılmaktadır (153). 6-OHDA lezyonlu ratlarda tekrarlanan levodopa uygulamaları ile görülen sensitizasyona karşı yoğun bir bilimsel ilgi oluşmuş ve ortaya çıkan anormal istemsiz hareketler, diskinezi başta olmak üzere PH'nın motor komplikasyonlarının araştırılması için potansiyel model olarak kabul edilmiştir (154, 155, 156).

Çalışmamızda PH prelinik veya premotor hayvan modeli olarak kabul edilen; 1994 yılında Sauer ve Oertel ve 1999 yılında Linder tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır (16).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY PROSEDÜRÜ

3.1.1. Deneyde Kullanılan Hayvanlar

Çalışmamızda Kocaeli Üniversitesi, Deneysel Tıp ve Araştırma Birimi (DETAB) Hayvan laboratuvarında üretilmiş olan Wistar türü, albino, erişkin, erkek sıçanlardan ağırlıkları 235-500 gr arasında olan 6-12 aylık 45 adet sıçan kullanılmıştır. Kocaeli Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından onaylandıktan sonra çalışmaya başlanmıştır. (Onay No: KOÜ HADYEK 9/3-2009, Proje no: 24/2009)

Sıçanlar, standart ölçülerdeki kafeslere tek tek konularak, içeriği standart olan rat yeminden (Optima) istedikleri kadar almaları sağlanmıştır. 12 saat aydınlık-12 saat karanlık periyotlarda, 21-24 °C ısıda ve bağıl nemi %50-60 olan ortamda muhafaza edilmişlerdir.

3.1.2. Deneyde Kullanılan Maddeler

Araştırmamızda nikotin dihidrojen ditartarat 462,4 g/mol (Sigma-Aldrich), 6-Hidroksidopamin hidroklorid H4381-100mg (Sigma-Aldrich), Askorbik asit A5960-25G (SigmaUltra), Sakarin sodyum 40 mg tablet (Münir Şahin), Ksilazin HCl 20 mg/ml (Alfasan), Ketamin baz 50 mg/ml (Pfizer), Lidokain HCl 40 mg amp. (Adeka), Formaldehid Solusyonu %37 (Merck), Fosfat buffer (PBS) tablet (Medicago) ve %0,9 NaCl solusyonu kullanılmıştır.

3.1.3. Deneyde Kullanılan Cihazlar

- Standart rat kafesi, su şisesi ve damlalığı
- Hassas Tartı
- Stereotaksik Çerçeve
- İnfüzyon Pompası

- Hamilton Enjektörü (50 µl)
- Kemik mikro-drill, internal-kanül, bulldog, bisturi, vb.
- Lokomotor Aktivite Cihazı
- Yükseltilmiş Artı Labirent Test Aparatı
- Koku Diskriminasyon Testinde Kullanılan Aparat
- Porsolt'un Yüzme Testi Silindiri
- Leica marka dijital kamera
- Perfüzyon – Fiksasyonda kullanılan cerrahi malzemeler
- Giyotin (dekapitatör) ve kemik makası
- İmmünohistokimyasal boyalar (H&E, Caspas 3, MAP-2)
- Olympus marka ışık mikroskobu

(Kullanılan tüm alet ve davranış testleri düzenekleri DETAB hayvan laboratuvarından sağlanmıştır.)

3.1.4. Deneklerin Gruplandırılması

1. **Grup:** Nikotinli su alan bilateral striatal lezyon grubu (**deney grubu**) (n= 15)
2. **Grup:** Nikotinli su alan sham grubu (**lezyonun kontrolü**) (n=10)
3. **Grup:** Normal su alan bilateral striatal lezyon grubu (**nikotin kontrolü**) (n=10)
4. **Grup:** Normal su alan lezyonsuz grup (**naif**) (n=10)

Davranış ve lokomotor aktivite testlerinde kontrol grubu

hafta	1	2	3	4	stereotaksik girişim			5	6	7	8
											dekapitasyon
1.GRUP (Ni-lezyon)	nikotine alışma tek şişe	nikotinli ve normal su iki şişe			6-OHDA lezyonu		nikotinli ve normal su iki şişe				nikotinli ve normal su + davranış testleri
2.GRUP (Ni-sham)	nikotine alışma tek şişe	nikotinli ve normal su iki şişe			sham lezyon		nikotinli ve normal su iki şişe				nikotinli ve normal su + davranış testleri
3.GRUP (Lezyon)	normal su tek şişe	normal su tek şişe			6-OHDA lezyonu		normal su tek şişe				normal su + davranış testleri
4.GRUP (Naif)	-	-			-		-				davranış testleri

Tablo 3: Denek grupları ve uygulanan işlemlerin zamansal dağılımı

3.1.5. Ağırlık ve Su Takibi

Tüm gruptaki hayvanlar tek tek kafeslere alınarak isimlendirildi ve tüm deney boyunca her hafta tartıldı. Deneklerin iki şişe serbest tercih yöntemi uygulanarak nikotinli ve çeşme suyu arasında tercih yapmaları sağlandı (157). Sıçanların su tüketimi iki günlük zaman aralıklarıyla akşam saat 16:00'da yapıldı ve her ölçüm sonrası yeniden su hazırlanıp bir önceki takipten artan su kullanılmadı. Deneklerin aynı standartta suluğu ve damlalığının olması sağlandı ve basınç farkını en aza indirmek için her suluğa eşit miktarda nikotinli su ve çeşme suyu koyuldu.



Resim-1: Anestezi altındaki sıçan ve kullanılan standart su şişesi.

Nikotinli su hazırlanışı

Nikotin 5 µg/ml olacak şekilde sabit dozda verilirken nikotinin acı tadını ortadan kaldırmak amacıyla kalori değeri olmayan sakarin kullanıldı. Nikotinli su, ilk hafta 4 mg/ml sakarin ile birlikte verildi. Nikotinli su ve çeşme suyu karşılaştırılmasına geçildiğinde yine ilk hafta nikotin 4 mg/ml sakarinle birlikte verilirken çeşme suyu da aynı oranda sakarinle tatlandırıldı. İzleyen takiplerde hem nikotinli su hem de çeşme suyundaki sakarin dozu birer hafta ara ile azaltılarak 2 mg/ml ve 1 mg/ml'e düşürüldü. Deney sonuna kadar 1mg/ml sakarin sabit olarak her iki suya katıldı.

İki şişe serbest tercih yöntemi

Grup 1 ve 2'ye ilk hafta normal çeşme suyu verilip toplam iki gün arayla ölçüm yapıldı. İkinci hafta nikotine alıştırmaya amacıyla sadece 4 mg/ml sakarin içeren nikotinli su verilirken ikinci haftadan itibaren deney sonuna kadar her kafese iki ayrı şişede hem nikotinli hem de

normal çeşme suyu konulup hayvanın serbest olarak istediğinden içmesi sağlandı. Grup 3' deki sıçanlara nikotinli su verilmeyip aynı prosedürde sakarinli çeşme suyu verilerek iki günlük takipler yapıldı.

3.2.CERRAHİ GİRİŞİMLER

3.2.1. Bilateral Striatal Lezyon Oluşturma

6-OHDA Solüsyonu Hazırlanması: -20 °C de saklanan 6-OHDA, her enjeksiyonda 12 µg/ml olacak şekilde daha önce hazırlanan %0,9 NaCl ile dilue edilmiş % 0,1 askorbik asit solüsyonu ile birleştirildi (16). Işık hassasiyeti nedeniyle hazırlanan solüsyon gün ışığından korundu. Solüsyon infüzyon pompasına yerleştirilmiş olan 50 µl'lik Hamilton enjektörüne, ucuna yerleştirdiğimiz 30 geyc çapındaki konnektör yardımıyla çekildi. Konektör, stereotaksik çerçeveye sabitlenmiş olan 26 geyc çapında internal kanülle birleştirilip infüzyon aparatı tamamlandı.

3.2.1.1. Deneğin sedatize edilmesi

Her sıçanın sedatize edilmeden önce hassas tartıda ağırlığı belirlendi. Ketamin 90 mg/kg ve Xylazin 10 mg/kg dozda olacak şekilde kombine olarak ip (intraperitoneal) yapıldı. Sıçanlara yaklaşık 10 dk sonra ayak başparmaklarından ağırlı uyaran verilerek anestezinin düzeyi tespit edildi. Yeterli anestezi sağlanamayan hayvanlara idame doz ketamin ip yapıldı. Göz kuruluğunu önlemek için distile su ile gözler yıkandı. Ağırlı uyarana yanıtı olmayan hayvanların kafa derisindeki kıllar temizlenip cerrahiye hazır hale getirildi.

3.2.1.2. Stereotaksik Girişim

Anestezi altındaki denek stereotaksik çerçeveye alındıktan sonra lokal olarak skalp dokusuna lidokain sc (subkutan) uygulanıp 1,5 cm'lik vertikal kesi açıldı. Kafatası kemiklerine ulaşıldıktan sonra bregma ve lambda noktalarının aynı düzlemde olduğundan emin olmak için koordinatları (anteroposterior, mediolateral) tespit edildi. Aynı düzlemde

olduklarından emin olduktan sonra her hayvanın kendi bregma koordinatları tespit edilip lezyon uygulanacak standart koordinatlarımızla (AP:+1,1 mm, ML: +/- 3,2 mm, DV:-7,2 mm) (13) karşılaştırıldı. Böylece her hayvanda oluşturulacak olan lezyon bölgesi belirlenip kafatası üzerinde işaretlendi. İşaretlenen noktalarda mikro-drill yardımıyla duramatere kadar uzanan delikler açıldı. İnternal kanül Paxinos ve Watson Sıçan Beyin Atlasına (158) göre bregmadan anteroposterior (AP):+1,1 mm, mediolateral (ML): +/- 3,2 mm uzaklıkta ve duramaterden dorsoventral (DV) :-7,2 mm derinliğe indirilerek striatal bölgeye infüzyon başlatıldı. İnfüzyon; 0,5 µl/dk hızda, toplam volumü 2,5 µg olacak şekilde 5 dakikada tamamlandı. Her infüzyon sonrası internalkanül 2 dakika bekletildikten sonra yavaşça çıkartıldı (16). Tüm işlem sonrası skalp 3-5 suture ile kapatılıp hayvan sıcak ortamda uyanmaya bırakıldı.



Resim 2: Stereotaksik yöntem ile OHDA infüzyonu.

Grup 1 ve 3'deki sıçanlara 6-OHDA ile bilateral striatal lezyon yapılırken grup 2'deki sıçanlara aynı prosedürle bilateral striatal bölgeye salin (%0,9 SF) infüzyonu yapıldı ve sham grubu oluşturuldu. Tüm gruplarda lezyon sonrası haftalık ağırlık ve iki günlük su alım takibine devam edildi, postoperatif 3. haftada davranış değerlendirmesi ve 4. haftada dekapitasyon sonrası histolojik değerlendirme yapıldı.

3.2.2. Perfüzyon-Fiksasyon-Dekapitasyon

3.2.2.1. Fiksasyon solusyonunun hazırlanması: pH'sı 7,4 olan 0,01 M fosfat buffer (PBS) tabletlerinin her biri 100 ml salin içinde dilue edildi. %4 formaldehit solusyonu 1000 ml salin ile dilue edildi ve fosfat buffer ile birleştirildi.

Deneyi sonlandırma aşamasında tüm denekler derin anesteziye alınıp önce batın ardından göğüs kafesi açıldı. Dolaşım sistemindeki kanı boşaltmak amacıyla sağ atriyum açıldıktan sonra sol ventrikül içine apeksten yerleştirilen transkardiyak kanül yardımıyla bolus şeklinde serum fizyolojik infüzyonu yapıldı. Her sıçan yaklaşık 200-300 ml salin ile perfüze edildi.

Perfüzyon sonrası önceden hazırlanmış olan %4'lük formaldehit solusyonu sol ventrikülde bulunan transkardiyak kanül yardımıyla dolaşım sistemine gönderildi. Her sıçan için yaklaşık 250-300 ml fiksatif kullanılarak fiksasyon tamamlandı. Sakrifiye edilen hayvanlar hemen giyotin yardımı ile dekapite edildi. Kemik makası yardımı ile kafatası tabanından başlanarak kranyum açıldı ve beyin dokusu ivedi şekilde %1 ' lik formaldehit bulunan saklama solüsyonları içinde histoloji laboratuvarına gönderildi.

3.3. LOKOMOSYON VE DAVRANIŞ DEĞERLENDİRME

3.3.1. Lokomotor Aktivite Ölçümü

Lokomotor aktivite ölçümleri özellikle rodentlerde sık kullanılan bir yöntemdir. Bu ölçümler ile deney hayvanının spontane aktivitesindeki değişiklikler saptanabilir ve özellikle bazı ilaçların sadatif, kas gevşetici ve psikostimülan etkileri hakkında fikir edinilebilir (159). Ayrıca deneklerin agresivitesi ve anksiyetesi de lokomotor aktivite ölçümleri ile değerlendirilebilir.

Lokomotor aktivite ölçüm sistemi; her bir kenarı üzerinde kızılötesi (IR) ışık kaynakları içeren kare şeklinde bir dikdörtgendir. Bu dikdörtgen üzerine yerleştirilen pleksiglas kafes içine denek yerleştirilir ve horizontal, vertikal ve ambulatuvar aktiviteleri kaydedilir. Sıçanın hareket etmesi, yan duvarlarda bulunan infrared sensörlerde iletici kesintilerine neden olur. Alet, bu kesintileri aktivite olarak algılar ve kaydeder. Hareketler, lokomotor aktivite aygıtına bağlı olan bilgisayarın monitöründen de gözlenebilmektedir.

Horizontal hareket, deneğin yer değiştirme ve dikilme hareketleri yapmaksızın olduğu yerde yaptığı hareketlerdir. Vertikal hareketler, dikilme hareketidir ve bantlar üzerindeki vertikal sensörlerle algılanır. Ambulatuvar hareket ise deneğin kafes içinde dikilme haricinde yaptığı her türlü yer değiştirme (gezinme) hareketidir.

Horizontal ve vertikal aktiviteler deney hayvanının stereotipik hareketleri ve agresivitesi hakkında fikir verici özelliktedir. Her üç aktivite ayrı ayrı değerlendirilebileceği gibi üçünün

toplamı total lokomotor aktivite (160) olarak da ifade edilebilir. Rodentlerin lokomotor aktiviteleri gün içinde farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle birden fazla grupta yapılan çalışmalarda günün hep aynı saatinde ölçüm yapılmalıdır.

Bizim çalışmamızda lokomotor aktivite aleti (May 9803 Activity Monitor, Commat) kullanıldı. Kullanılan lokomotor aktivite aleti, sıçanların üzerine konulduğu 40x40 ebadında, kare biçiminde, beyaz pleksiglastan oluşmuş olan zemin ve bu zeminin dış kısımlarını çevreleyen 35 cm yükseklikteki şeffaf pleksiglastan yapılmış duvarlardan oluşuyordu. Denekler ortama yarım saat önce getirildi ve her denek 10 dakika sistem içine bırakıldı. Her hayvandan sonra ıslak havlu ile sistem temizlenip yeni denek alındı.



Resim 3: Locomotor aktivite ölçüm cihazı (DETAB)

3.3.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

1985 yılında File ve arkadaşları tarafından tanımlanan bir modeldir ve emosyonel aktiviteyi test etmekte kullanılır (161). İlaçların davranışsal, fizyolojik ve farmakolojik etkilerini test etmede kullanılan, iki açık ve iki kapalı kolu olan (+) şeklinde yerden belli bir yükseklikte bulunan bir deney düzeneğidir.

Yükseltilmiş artı labirent testlerinde deney hayvanı kendini kapalı kolda daha emniyette hisseder ve zamanının çoğunu kapalı kollarda geçirir. Anksiyolitik etkili ilaçlar açık kol veya kollarda kalma süresini arttırır (162).

Çalışmamızda kullandığımız labirentin açık kolları 50x10x1 cm, kapalı kolları 45x10x40 cm boyutlarındaydı. Artı şeklindeki kollar orta noktada 10x10 cm'lik santral alanda birleşmişti ve aparatın yerden yüksekliği 50 cm olarak ayarlanmıştı.



Resim 4: Yükseltilmiş artı labirent düzeneği (DETAB).

Çalışmamızda hayvanlar testin başında tek tek orta bölgedeki açık alana yüzleri açık kollardan birine bakacak şekilde bırakıldı. 5 dakika boyunca denekler izlendi ve her denekten sonra düzenek ıslak havlu ile temizlendi. Açık kolda kalma süresi (OET), kapalı kolda kalma süresi (CET), açık kola giriş sayısı (OEN) ve kapalı kola giriş sayısı (CEN) kaydedildi.

3.3.3. Zorunlu Yüzme Testi (Forced Swimming-Umutsuzluk Testi)

İlk olarak 1977 yılında Porsolt tarafından tanımlanmış bir testtir (163). Bu nedenle 'Porsolt zorunlu yüzme testi ' (PYT) olarak da adlandırılır. Herhangi bir uygulamanın veya ilacın antidepresan veya depresan etkinliğini araştırmada kullanılır. Yöntemin esası deney hayvanının boyunu geçen, en az 18 cm çapında ve 40 cm yüksekliğinde, 15 cm' lik kısmı su

ile dolu (deneğin kuyruğu zemine değmemeli) olan bir silindirde yüzmeye bırakılmasıdır. PYT modelinde hayvanları yüzmek zorunda oldukları bir ortama sokmak, şartsız korku-akut strese özgü olan çeşitli davranışsal, sirkadiyen ve fizyolojik değişimlere neden olmaktadır (164). Testin önemli avantajı ise PYT sonrasında deneklerin merkezi sinir sisteminde meydana gelen nörokimyasal değişimlerin, depresyon ve post-travmatik stres bozukluğu hastalarının merkezi sinir sistemlerinde meydana gelmiş olan değişimlerle aynı olmasıdır.

PYT iki basamaklı bir testtir (165). Denek ilk aşamada (PYT 1) şeffaf bir pleksiglas silindir içerisinde 15 dakika boyunca yüzdürülür ve bu durum hayvanın "davranışsal umutsuzluk-çökkünlük" olarak nitelendirilen hareketsiz bir postur almasına neden olur. Birinci aşamanın bitiminden 24 saat sonra deneğin yine 5 dakika boyunca yüzdürüldüğü ikinci aşama (PYT 2) başlar (165).

Denek belli bir süre yüzerek içinde bulunduğu ortamdan kurtulmaya çalışır. Bir süre sonra artık içinde bulunduğu ortamdan kurtulma ile ilgili derin bir ümitsizlik gelişir ve sıçan yüzme gayretini bırakarak hareketsiz bir şekilde (immobilizasyon) su yüzünde kalır. Bu hareketsiz kalma hali 'umutsuzluk' durumu olarak isimlendirilir. Hayvanın hareketsiz kalma haline giriş ve kalış süreleri kaydedilir.



Resim 5: Porsolt 'un zorlu yüzme testi silindiri (DETAB).

Literatürde, davranışsal umutsuzluk-çökkünlük hali olarak nitelendirilen hareketsizlik durumunun hayvanın acı verici test ortamından kaçma ümidinin kaybolmasının bir sonucu olarak ortaya çıktığı kabul edilmektedir, başka bir ifadeyle hayvan kurtulma çabaları sonuca

ulaşmadığı için tepki vermemeyi çabalamamayı öğrenmektedir (164). PYT'de değerlendirmeye alınan başlıca parametre ise deneğin 5 dakika boyunca yüzdüğü PYT 2'deki hareketsiz geçirdiği süre ile PYT 1'de hareketsiz geçirdiği süre arasındaki farktır (166). Noradrenerjik ve serotonerjik sistemlerdeki değişimlere karşı duyarlı olduğu bilinen PYT'de her iki sistemin etkinliği de farklı parametreler üzerinden gözlemlenebilir; serotonin üretimindeki artış, dalma ve zıplama gibi, kaçmaya yönelik çabalama davranışlarının miktarını artırırken noradrenalin üretimindeki artış ise hareketsizlik süresini azaltmaktadır (167). Tüm bu özellikler PYT paradigmasını çeşitli etkenlerin emosyonel öğrenme-hafıza süreçleri üzerindeki etkisini gözlemlemek adına değerli bir araç haline getirmektedir.

Çalışmamızda zorlu yüzme testi, 20cm çapında, 60 cm yüksekliğinde pleksiglas malzemedен yapılmış silindir içine 50 cm yüksekliğe kadar 25 °C ısıda su doldurularak yapıldı. Sıçan 24 saat ara ile iki kez suya konulup ilk gün 15 dakika, ikinci gün 5 dakika boyunca yüzdürüldü. Her bir denek, kuruması ve dinlenmesi için, uygulamadan sonra içi kâğıt havlu ile kaplı ve bir lamba tarafından ısıtılan bir kafeste 10 dakika boyunca bekletildi. Tüm uygulamalar video-kamera ile kaydedildi ve daha sonra 3 kez izlenerek hareketsiz kaldıkları davranışsal çökkünlük süreleri hesaplandı.

3.4. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME

3.4.1. Işık Mikroskop Takibi

Striatumu içeren beyin bölgesinden aşağıda belirtilen rutin ışık mikroskop takip yöntemi kullanılarak parafin bloklar elde edildi.

- 1- Beyin dokusu, akan musluk suyunda 4-5 saat yıkandı,
- 2- Oda sıcaklığında % 70, % 80, % 95, % 100 alkolde 45 dakika,
- 3- Oda sıcaklığında iki kez % 100 alkolde 60 dakika,
- 4- Oda sıcaklığında iki kez toluolde 15 dakika,
- 6- Ettüvde yaklaşık olarak 56-60 °C de üç kez katı parafinde 60 dakika bekletildikten sonra döküm kalıplarında parafin bloklar elde edildi (168).

3.4.2. İmmünohistokimya Yöntemlerinin Uygulanması

Parafin bloklardan striatum boyunca yaklaşık 5 µm kalınlığında alınan kesitler poly-L-lysine kaplı lamlara alındı. Kesitler kuruması için bir gece 45 °C de etüvde bekletildi (168).

3.4.2.1. Caspase- 3 İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

Kesitlere kullanıma hazır Universal HRP immun boyama kit (tavşan primer antikorları için, Diagnostic Biosystem) kullanılarak caspase 3 antikoruna (CPP32 poliklonal tavşan antikoruna, Diagnostic Biosystem) ile immünohistokimya boyaması yapıldı.

1- Kesitler, oda sıcaklığında 10 dakika iki ayrı toluolden, 3 dakika iki ayrı % 100 alkolden, 3 dakika bir defa % 95 alkolden, bir defa % 70 alkolden geçirilerek parafin ve su giderildi.

2- Kesitlerin parafini ve suyu giderildikten sonra 10 mM sitrat tamponunda (pH 6.0), etüvde 100 °C'de 20 dakika bekletildi (Formaldehit tespiti, birçok antijen ve epitoplara immün aktifliğini kısmen bozar. Formaldehit tespitinin olumsuz etkisi antijen kurtarma yöntemi ile başarılı bir şekilde geri döndürülür. Kesitler 20 dakika oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildikten sonra fosfat tamponlu tuzlu suda yıkandı.

3- Kesitler 5 dakika fosfat tamponlu tuzlu suda yıkandıktan sonra, 10 dakika % 3 hidrojen peroksitde (H₂O₂) bekletildi (Hidrojen peroksit doku kesit endojen enzim aktivitelerini bloke etmek ve böylece istenmeyen enzim aktivitelerinin oluşmasını önlemek için kullanıldı.

4- Spesifik olmayan boyanmayı ortadan kaldırmak için kesitlere oda sıcaklığında 5 dakika ultra V blok uygulandı (Bir vitamin ve koenzim olan biyotin de endojen olarak dokuda enzimlere ve diğer proteinlere bağlı olarak bulunur). Biyotin, avidin ve streptavidine kuvvetle bağlanır. Bu nedenle, endojen biyotin aktivitesini maskeleyebilir. Endojen biyotin, dışarıdan verilen avidin ile bloklanabilir. Kesitlerin avidin ve biyotinle inkübasyonları problemin çözümünde yeterli olur.

5- Kesitler oda sıcaklığında 1saat caspase 3 (dilüsyon oranı 1:100) antikoruyla inkübe edildi.

6- Daha sonra kesitler oda sıcaklığında 20 dakika biyotinli anti-tavşan sekonder antikorda bekletildi.

7- Kesitler 20 dakika streptavidin horseradish peroksidazda bekletildi.

8- Kesitler 3-Amino-9-ethylcarbazole (AEC) kromojeniyle boyandıktan sonra kapatma solüsyonuyla kapatıldı.

Boyama özgülüğü kontrolleri, negatif kontrol olarak doku kesitleri boyama adımları sırasında primer antikör yerine fosfat tamponlu tuzlu suda bekletildi. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu içeren lamalar kullanılmıştır.

Doğal programlı hücre ölümünde (apoptozis) caspase-3 anahtar yapıdır. Bir sistein proteazı olan caspase-3 hücrede proenzim şeklinde bulunur, hücreyi ölüme götüren kontrollü proteolizis, aktif caspase-3'ün oluşmasıyla gerçekleşir (169). Bu çalışmada Caspase- 3 immünohistokimyasal boyama yöntemi ile striatumda nukleusları kırmızı boyanmış hücreler, sayım için kullanıldı.

3.4.2.2.Mikrotübül ilişkili Protein (MAP-2) ile İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi

Kesitlere fare ABC boyama sistem kit (sc-2017, Santa Cruz Biotechnology, Inc) kullanılarak, mikrotübül ilişkili protein-2 (MAP2, SMI-52, ab28032) antikoru ile kit yönergesine göre immünohistokimya boyaması yapıldı.

1- Kesitlerin parafini ve suyu giderildikten sonra 10 mM sitrat tamponunda (pH 6.0), etüvde 100 °C'de 20 dakika bekletildi (Bu uygulama, formaldehit ile tespit edilen dokularda, antijen kurtarma işlemi için yapıldı). Kesitler 20 dakika oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildikten sonra fosfat tamponlu tuzlu suda yıkandı.

2- Kesitler 10 dakika hidrojen peroksitte bekletildi.

3- Spesifik olmayan boyanmayı ortadan kaldırmak için kesitlere oda sıcaklığında 5 dakika ultra V blok uygulandı.

4- Kesitler oda sıcaklığında 1 saat MAP- 2 (dilüsyon oranı 1: 1000) antikoruyla inkübe edildi.

5- Daha sonra kesitler oda sıcaklığında 30 dakika biyotinli sekonder antikorda bekletildi.

6- Kesitler 30 dakika avidin biyotin HRP enzim karışımında bekletildi.

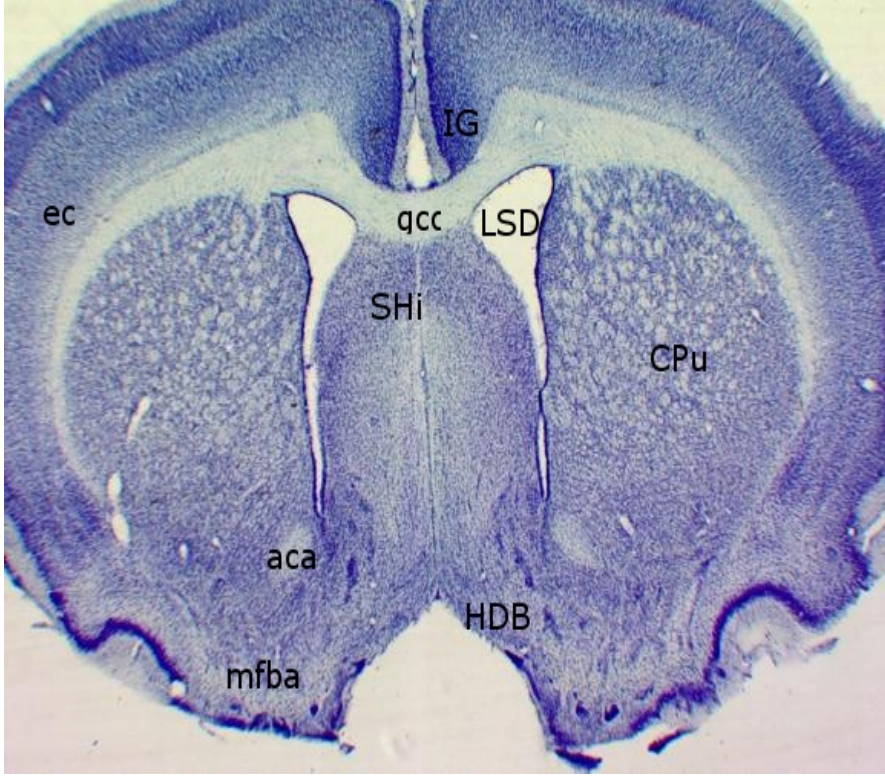
7- Kesitler AEC kromojeniyle boyandıktan sonra kapatma solüsyonuyla kapatıldı.

Negatif kontrol olarak doku kesitleri boyama işlemleri sırasında primer antikör yerine fosfat tamponlu tuzlu suda bekletildi. Pozitif kontrol olarak kit içinde hazır olarak elde edilen meme dokusu içeren lamalar kullanıldı.

Hematoksilen Eozin (H&E) boyamasıyla striatum bölgesindeki nöron miktarı sayıldı. H&E boyamasıyla ışık mikroskobunda nöronlar, oval veya yuvarlak biçimli belirgin nukleoluslu heterokromatinden fakir nukleusa sahip büyük perikaryonuyla kolayca ayırt edilebilen karakteristik bir görünüme sahiptir. Nöronlar, bu görünüşleriyle nukleolusu belirgin olmayan heterokromatinden zengin nukleusa sahip olan daha küçük perikaryonlu glialardan ayırt edilebilirler (170). H&E boyamasıyla striatum bölgesi nöron sayımında bu morfolojik bilgiden yararlanıldı. Işık mikroskobunda apoptoz morfolojisi gösteren nöronlar, heterokromatince zengin bir nukleusa ve az miktarda yoğun bir stoplazmaya sahip hücrelerdir. Eğer sitoplazma gözlenebiliyorsa, genelde çok zayıf boyanmıştır ve nissl maddesi içermez (171).

Tüm gruplarda sayım yapılan kesitlerin aynı bölgeden alınması için, Paxinos&Watson koordinatlarına göre intraural 11.28 mm ve bregma 2.28 ile intraural 8.88 mm ve bregma - 0.12 mm arasındaki koordinatlardan geçen kesitler seçildi (Şekil 11-12). Kesitler striatumun olduğu 3 kesit dizisinden alındı (Resim 6).

Sayımlar olympus marka ışık mikroskobunun 40'lık büyütmesi kullanılarak yapıldı. Sayım çerçevesinin alanı $97 \times 97 \mu\text{m}^2$ dır ($9409 \mu\text{m}^2$; 200 mesh'lik bir gridin delik alanı). Sayım çerçevesi, striatum bölgesinin hücre tabakasına doğru rastgele dağıtıldı (171). Her kesitten toplam 4 tane $9409 \mu\text{m}^2$ lik alan içinde caspase 3 işaretli ve H&E boyalı nöronlar sayılmıştır. Her gruptan seçilen 7 sıçanda yapılan bu sayımların sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildi. Işık Mikroskobu fotoğrafları, leica marka mikroskoba bağlı dijital kamera sistemi ile bilgisayara aktarılarak kaydedilmiş ve daha sonra basılmıştır.



Resim 6: Paxinos&Watson koordinatlarına göre intraural 11.28 mm ve bregma 2.28 ile intraural 8.88 mm ve bregma -0.12 mm arasındaki koordinatlardan geçen önbeyin koronal kesiti (158).

(Anterior komissür - aca,
Putamenin kaudat kısmı – Cpu,
eksternal kapsül – ec,
korpus callosumun genu – gcc,
horizontal limb diagonal bant – HDB,
indusium griseum - IG,
lateral septal çekirdeğin dorsali – LSD,
medialönbeyin demeti – mfba,
septohippocampal çekirdek – Shi)

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Elde edilen sonuçlar ortalama \pm standart hata (SEM) olarak ifade edildi. Verilerin istatistiksel anlamlılık düzeyleri “GraphPad Prism Viewer Versiyon-5,03” istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Su tüketimini hayvanların kilolarına göre standardize edildi. İki günlük su tüketim ölçümleri haftalık ortalamalar alınarak lezyon öncesi dört hafta ve lezyon sonrası dört hafta olacak şekilde değerlendirilmeye alındı. Dört grubun sakarinli, nikotinli ve toplam su tüketimi verileri iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post hoc Bonferroni testi ile değerlendirildi.

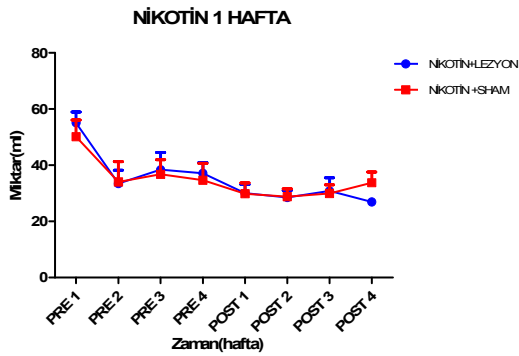
Histolojik açıdan her gruptan seçilen yedi sıçandan normal hücre sayımı ve apoptotik hücre sayımları; her hayvandan 3 kesit, 4 alan -12 sayım şeklinde yapıp Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) yöntemi kullanılarak karşılaştırıldı. Üç deney grubu naif hayvanlardan oluşan yeni bir grubun kesitleriyle karşılaştırıldı. Aynı şekilde davranış deneylerinden elde edilen veriler her bir parametre için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve ‘Tukey Post Hoc Testi’ yöntemi kullanılarak gruplar arası karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. SU TÜKETİMİ

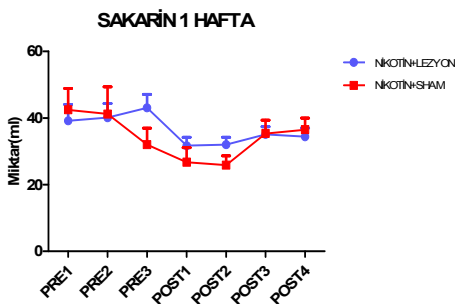
4.1.1. Nikotinli Su Tüketiminin Değerlendirilmesi

Nikotin alan iki grup (OHDA lezyonlu ve Sham lezyonlu) arasında nikotin tüketim miktarında lezyon öncesi ve sonrasında anlamlı fark saptanmadı. Lezyon sonrası 4. haftada nikotinli su tüketiminin; OHDA lezyonlu deney grubunda sham lezyonlu gruba göre azalmış olarak saptanması uzun süreli takipte nikotin alımının azalabileceği izlenimi verdi. Fakat deney histolojik değerlendirme için sonlandırıldığından anlamlı sonuç elde edilemedi.

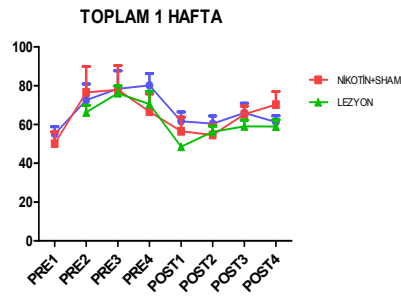


Grafik 1: Nikotinli su tüketim miktarında gruplar arasındaki anlamlı farklılık ($p>0.05$).

4.1.2. Sakarinli Su ve Toplam Su Tüketimi Değerlendirmesi



Grafik 2: Sakarinli su tüketim miktarı



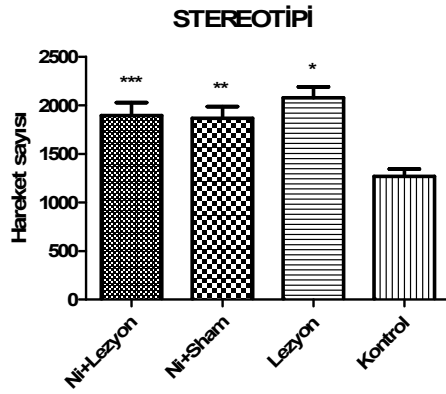
Grafik 3: Toplam su tüketim miktarı

Üç grup arasında sakarinli su ve toplam su tüketim miktarı arasında anlamlı fark saptanmadı.

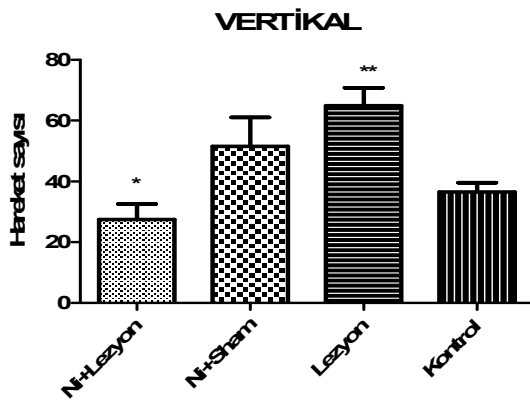
4.2. LOKOMOTOR AKTİVİTE

4.2.1. Stereotipik ve Vertikal Hareketlerin Değerlendirilmesi

Deneyde kullanılan üç grupta da stereotipik hareketlerde naif sıçanlardan oluşan kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$) artış saptandı. Nikotin, lezyonlu grupta, stereotipik hareketleri kısmen azaltmıştı. Vertikal (dikilme) hareketler nikotin almayan lezyonlu grupta kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$) olarak artış saptandı. Nikotin alan lezyonlu grupta nikotin almayan lezyonlu gruba göre vertikal hareketler anlamlı ($p < 0,05$) olarak azalmıştı.



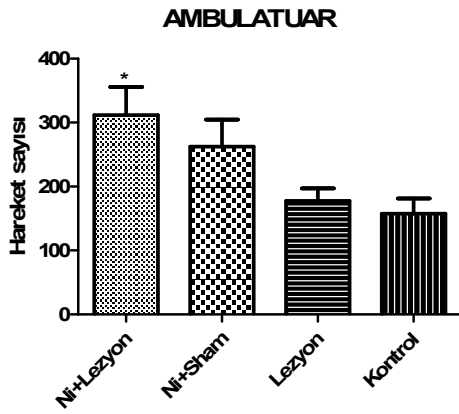
Grafik 4: Tüm gruplarda stereotipik hareketlerdeki anlamlı ($p < 0,05$) artış.



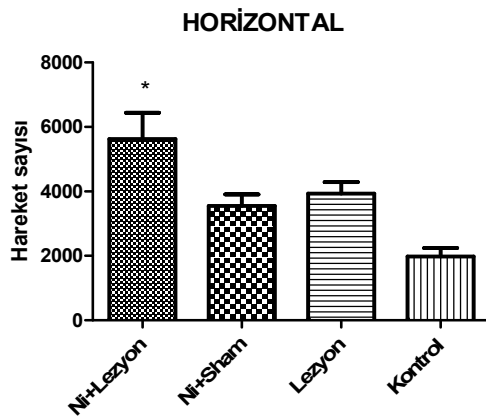
Grafik 5: Nikotin alan lezyonlu grupta vertikal hareketlerdeki anlamlı ($p<0,05$) azalma ve OHDA lezyonunun vertikal hareketlerde oluşturduğu anlamlı ($p<0,05$) artış.

4.2.2. Ambulatuvar ve Horizontal Hareketlerin Değerlendirilmesi

Ambulatuvar (yer değiştirme) hareketler; nikotin alan OHDA lezyonlu deneklerde kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0,05$) olarak artmıştı. Horizontal hareketler (deneğin yer değiştirme ve dikilme hareketleri yapmaksızın olduğu yerde yaptığı hareketlerdir) bütün gruplarda anlamlı ($p<0,05$) olarak artmıştı.

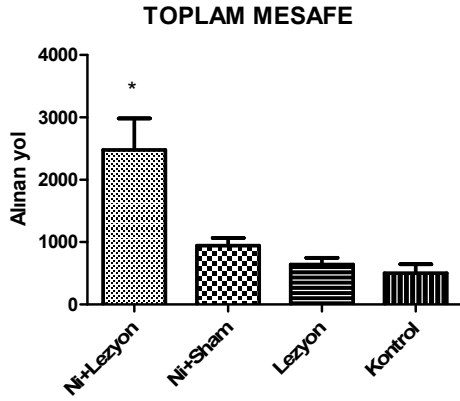


Grafik 6: Nikotin alan lezyonlu grupta yer değiştirme hareketindeki anlamlı ($p<0.05$) artış.



Grafik 7: Nikotin alan lezyonlu grupta horizontal hareketlerdeki anlamlı ($p<0.05$) artış.

4.2.3. Katedilen Toplam Mesafenin Değerlendirilmesi



Grafik 8: Nikotin alan lezyonlu grupta toplam katedilen yoldaki anlamlı ($p < 0,05$) artış.

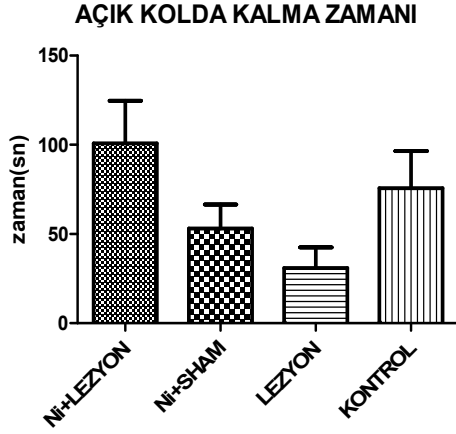
Total hareketler üç grupta da kontrol grubuyla benzerlik gösterdiği halde ilginç olarak katedilen mesafe nikotin alan OHDA lezyonlu grupta, diğer gruplar ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış ($p < 0,05$) olarak saptandı.

4.3. DAVRANIŞ ÖZELLİKLERİ

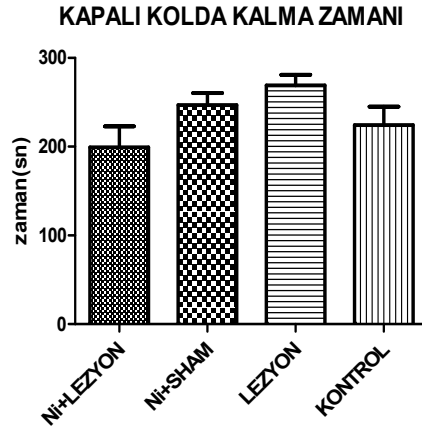
4.3.1. Anksiyete Değerlendirmesi

Yükseltilmiş artı labirent testinde nikotin alan deneklerin, nikotin almayan deneklerden daha fazla açık kolda zaman geçirdikleri (nikotin anksiyeteyi azalttı) izlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlılık ($p > 0,05$) saptanmadı.

Bilateral 6-OHDA lezyonunun kontrol grubuna göre açık kolda kalma süresini azalttığı yani anksiyete oluşturduğu izlendi. Kapalı kolda kalma süresi tüm gruplarda birbirine yakın sürelerdeydi.



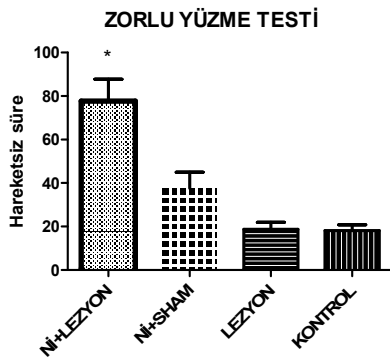
Grafik 9: Açık kolda kalma süresi



Grafik 10: Kapalı kolda kalma süresi

4.3.2. Depresyon Değerlendirmesi

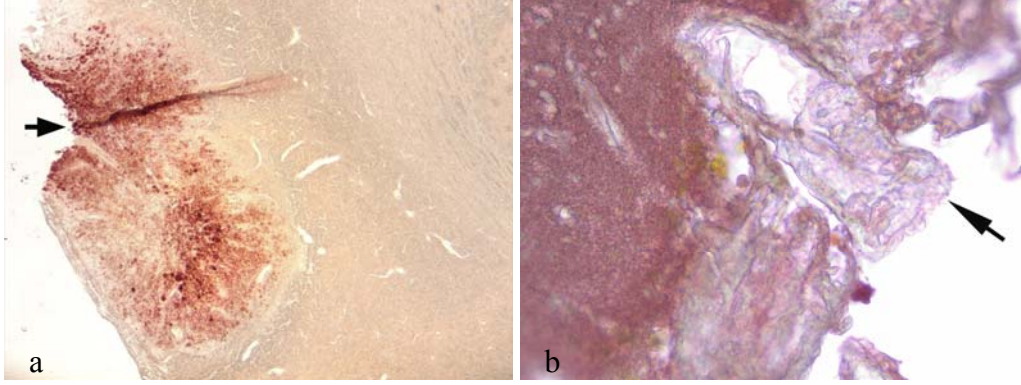
Zorunlu yüzme testinde ümitsizlik değerlendirilmesi yapılırken sıçanların hareketsiz kalma süresi, nikotin alan OHDA lezyonlu grupta diğer gruplar ve kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$) olarak artmıştı. Nikotin alan sham lezyonlu sıçanlarda da kontrol grubu ve nikotin almayan OHDA lezyonlu gruba göre immobilitate artmıştı.



Grafik 11: Nikotin alan lezyonlu grupta hareketsizlik zamanındaki anlamlı ($p < 0,05$) artış.

4.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

4.4.1. Lezyon Yeri



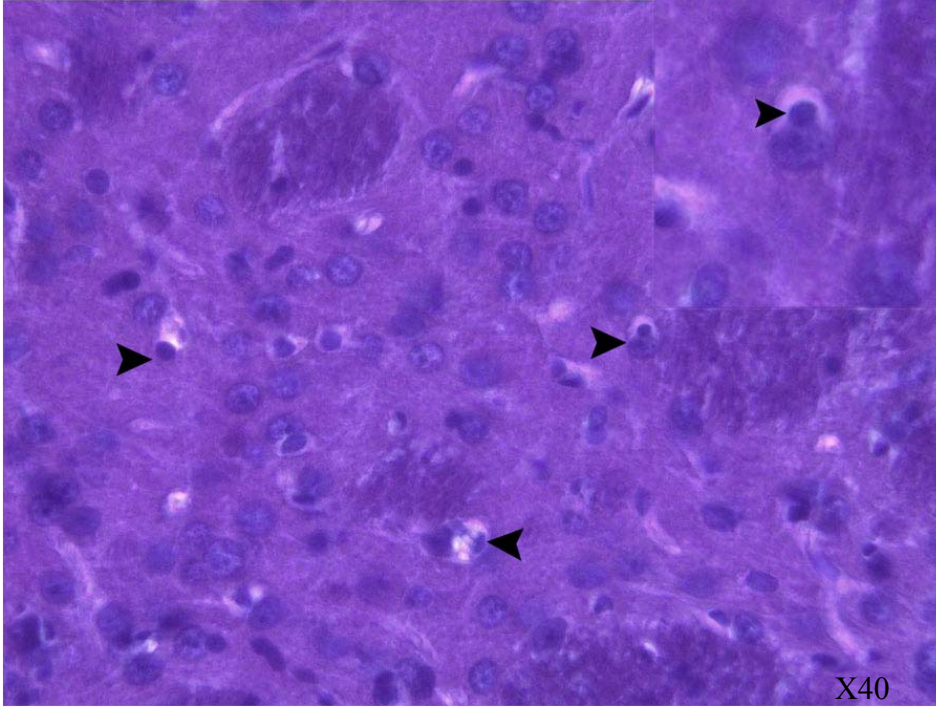
Resim 7: (a) Lezyon grubu ve (b) Ni+Sham lezyon grubunda enjeksiyondan etkilenen lezyon alanı (X2). (Lezyon grubunun lezyon alanının çapı diğer gruplara oranla daha fazla izlenmektedir)

4.4.2. H&E ile Boyama Yöntemi

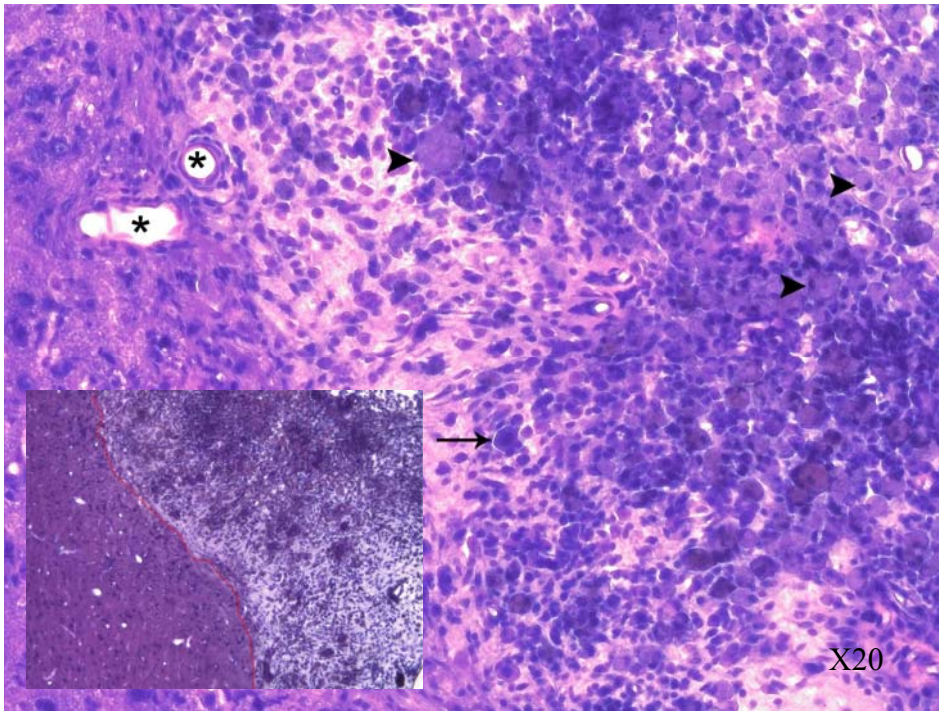
Neonatal sıçanların striatumundaki dopaminerjik terminallerde, 6-OHDA lezyonu sonrası 10 gün boyunca fenotipik olarak apoptotik hücre ölümünün varlığı saptanmıştır (172). Hücre daralması, kromatin kondensasyonu (yoğunlaşması), membran tomurcuklanması ve DNA fregmantasyonu apoptozisin karakteristik özellikleridir (173).

Biz de genel olarak apoptotik hücre ölümünü saptamak için kullanılan piknotik nükleus (kondanse kromatin) ve apoptotik cisim oluşumu gibi morfolojik bulguların bir serisini gözlemledik. Burada Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyamasıyla elde edilen morfolojik bulgular yer almaktadır.

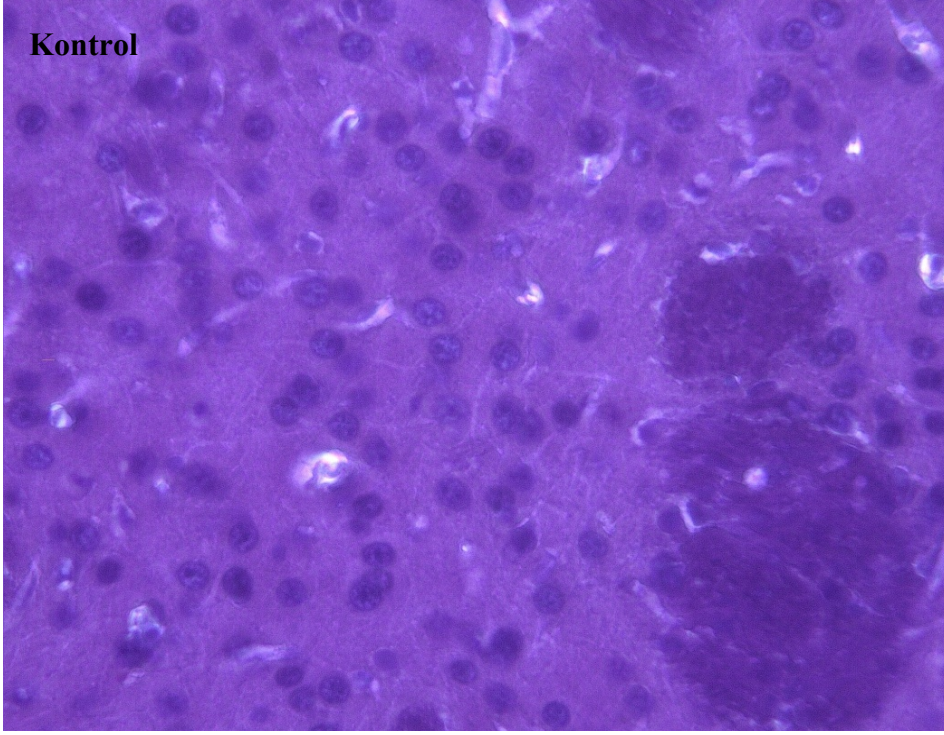
MSS'de inflamasyon temel olarak iskemi, kronik nörodejenerasyon veya enfeksiyon gibi hipoksik/anoksik sebeplerle oluşabilir. Astrositler, kemik iliği kökenli mikroglialar ve MSS'nin makrofajlarını oluşturan glial hücreler aktive olur ve inflamatuvar cevaba katılırlar. Polimorfonükleer lökositler, lenfositler ve makrofajlar gibi periferden gelen hücreler de nöral inflamasyona destek olan elemanlardır (174).



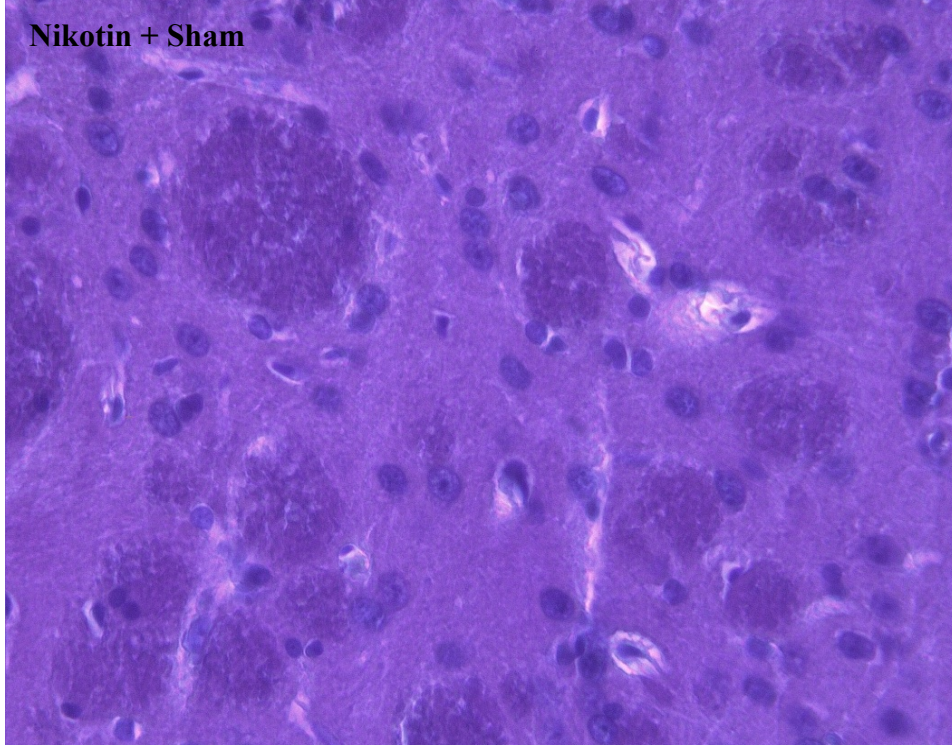
Resim 8: Apoptozisin göstergelerinden biri olan nukleusu daralmış ve stoplazması vakuolize olmuş, hasarlanmış nöronlar (►) ve kondanize nukleuslu, koyu mavi boyanmış, geri dönüşü olmayan apoptotik hücreler (X40).



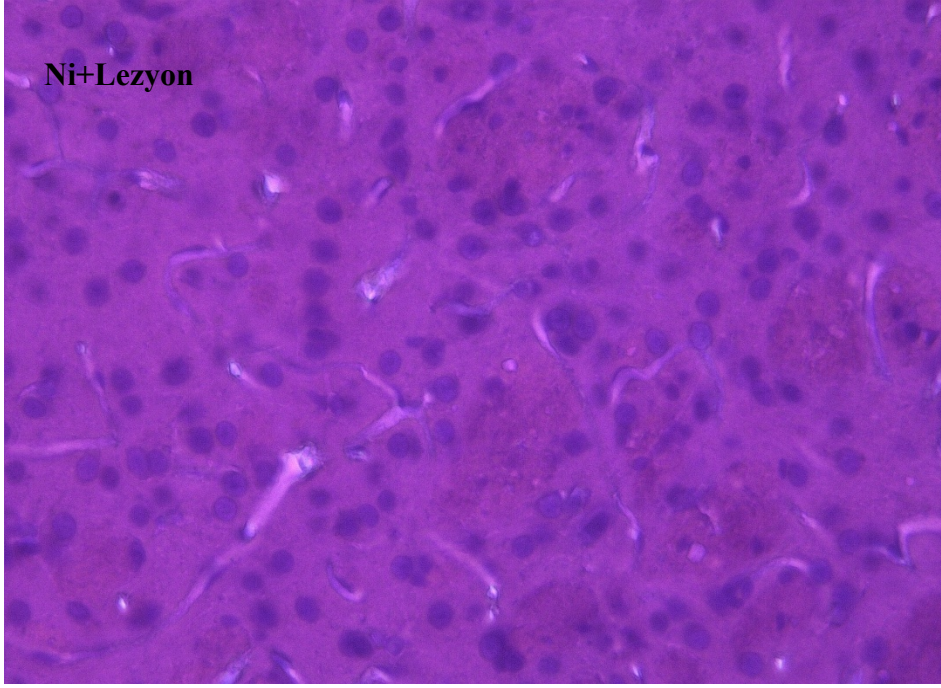
Resim 9: Lezyonlu gruptan alınan kesitte; glial skar alanında pembe boyanmış kısımda ekstrasellüler matris artışı. Kan damarları (*), multinükleer dev hücreler (►), makrofajlar(→). Lezyon alanının çevresinde reaktif astrositler tarafından oluşturulan glia limitans oluşumu (küçük resim x4) (X20)



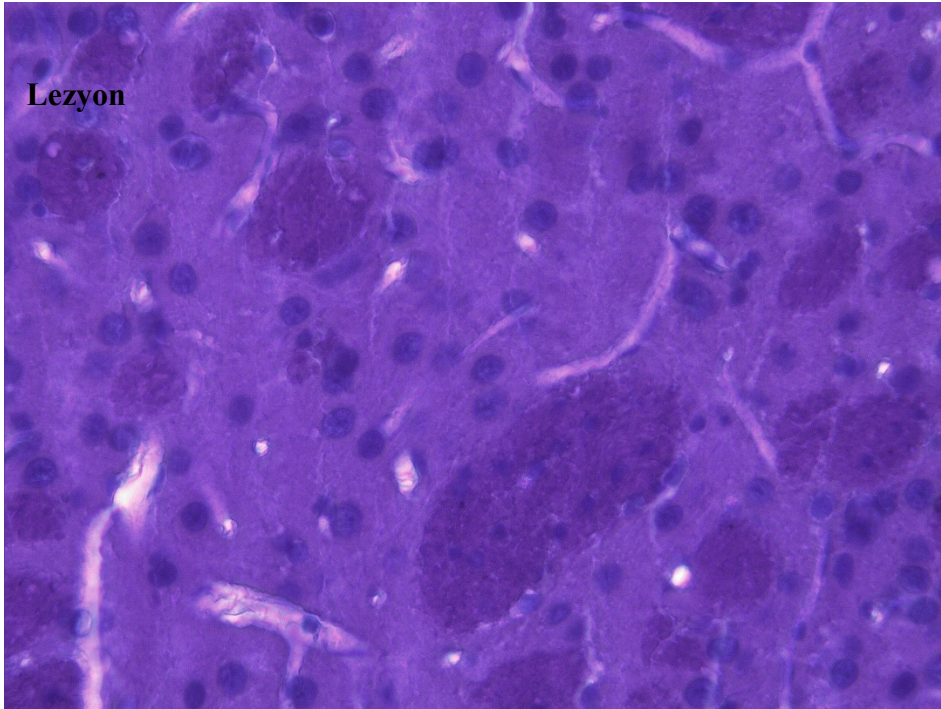
Resim 10: Kontrol grubunda H&E boyama ile izlenen nöronlar (X40).



Resim 11: Nikotin alan sham lezyonlu grupta H&E boyama ile izlenen nöronlar (X40).

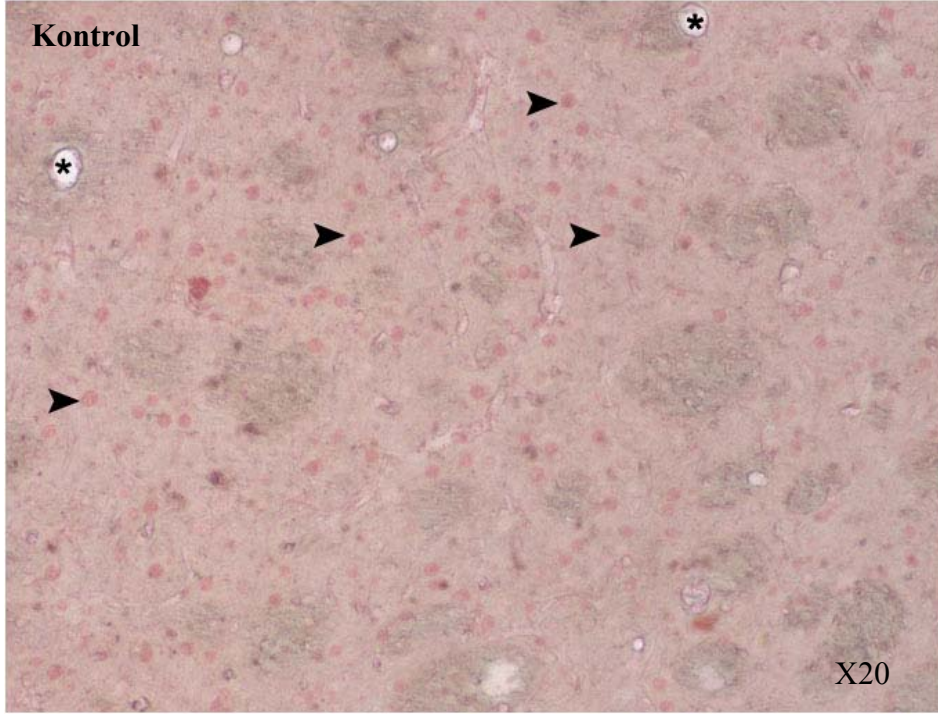


Resim 12: Nikotin alan OHDA lezyonlu grupta H&E boyama ile izlenen nöronlar (X40).

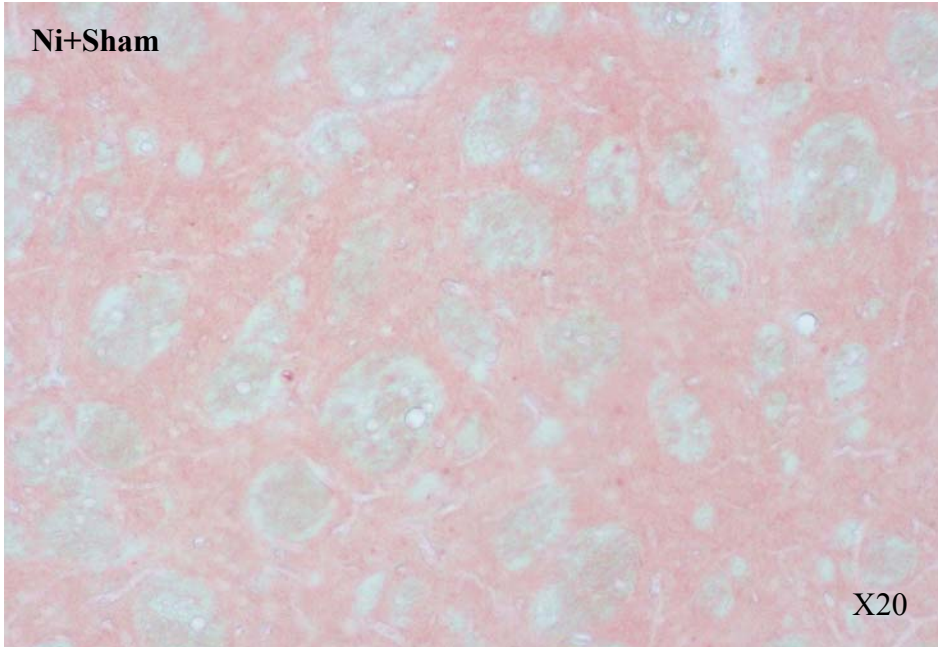


Resim 13: Nikotin almayan OHDA lezyonlu grupta H&E boyama ile izlenen nöronlar (X40).

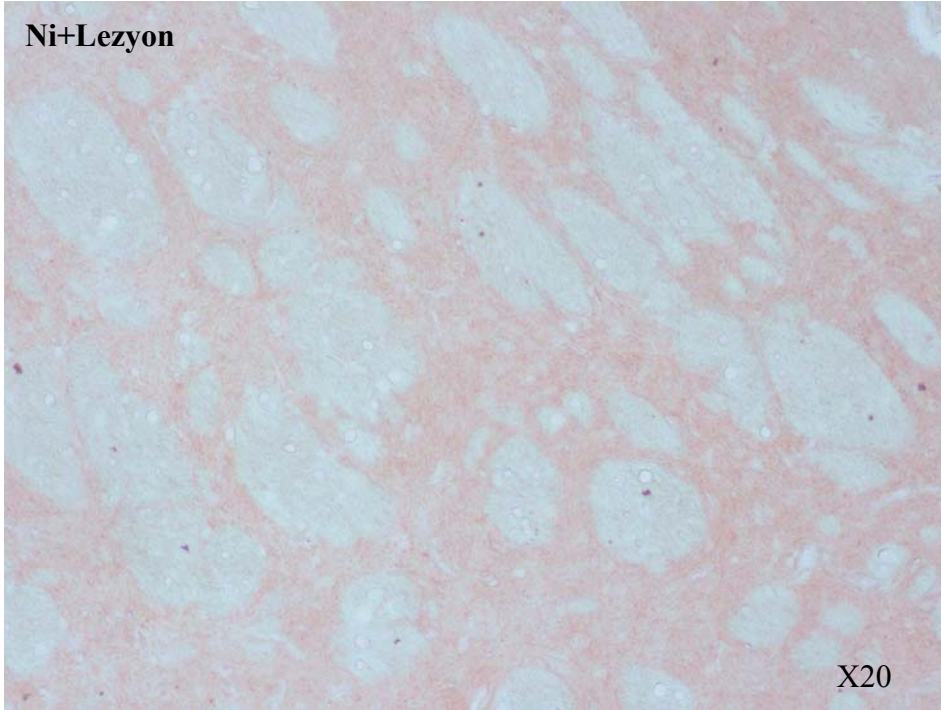
4.4.3. MAP-2 İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi



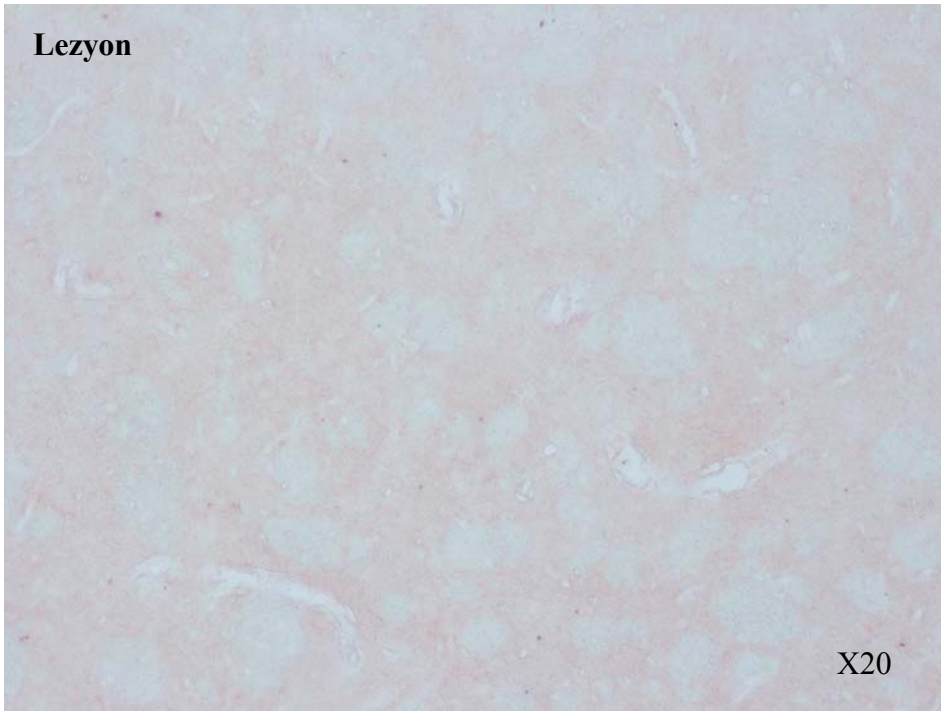
Resim 14: Kontrol grubunda bol miktarda ve koyu boyanmış MAP-2 pozitif nöronlar (X20). (►) MAP-2 ile pozitif işaretlenmiş nöronlar, (*) kan damarları.



Resim 15: Nikotin alan sham lezyonlu grupta orta yoğunlukta izlenen MAP-2 pozitif nöronlar (X20).

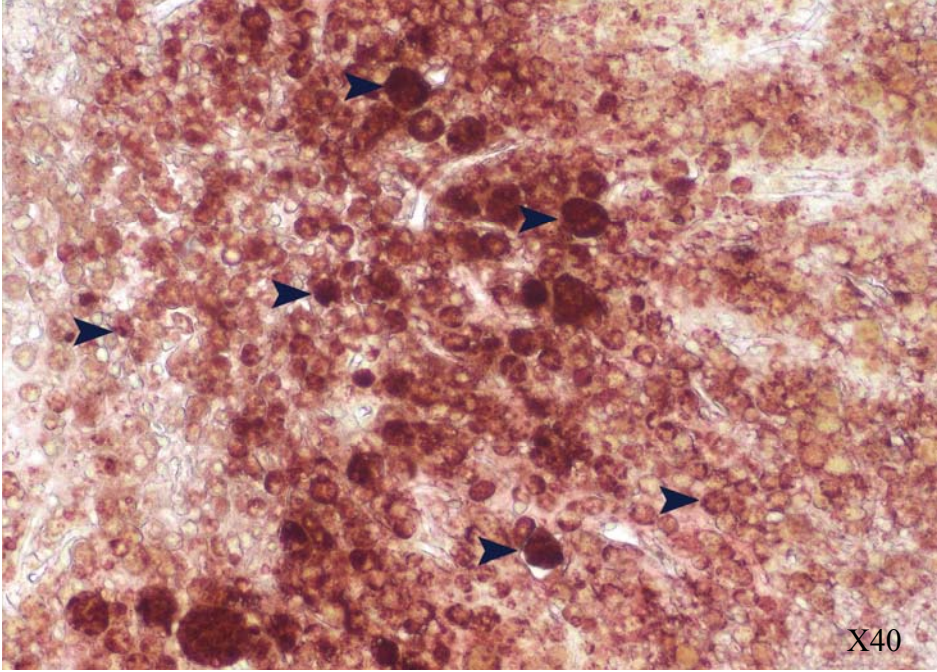


Resim 16: Striatumda, Nikotin alan OHDA lezyonlu grupta oldukça zayıf boyanan MAP-2 pozitif nöronlar (X20).

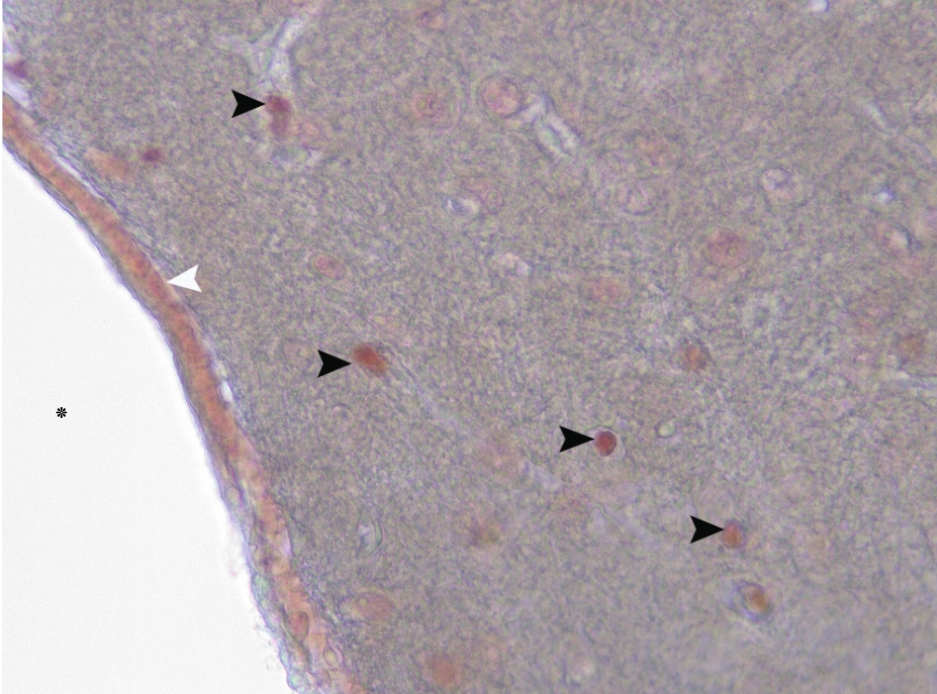


Resim 17: Striatumda, Nikotin almayan OHDA lezyonlu grupta oldukça zayıf izlenen MAP-2 pozitif nöronlar (X20).

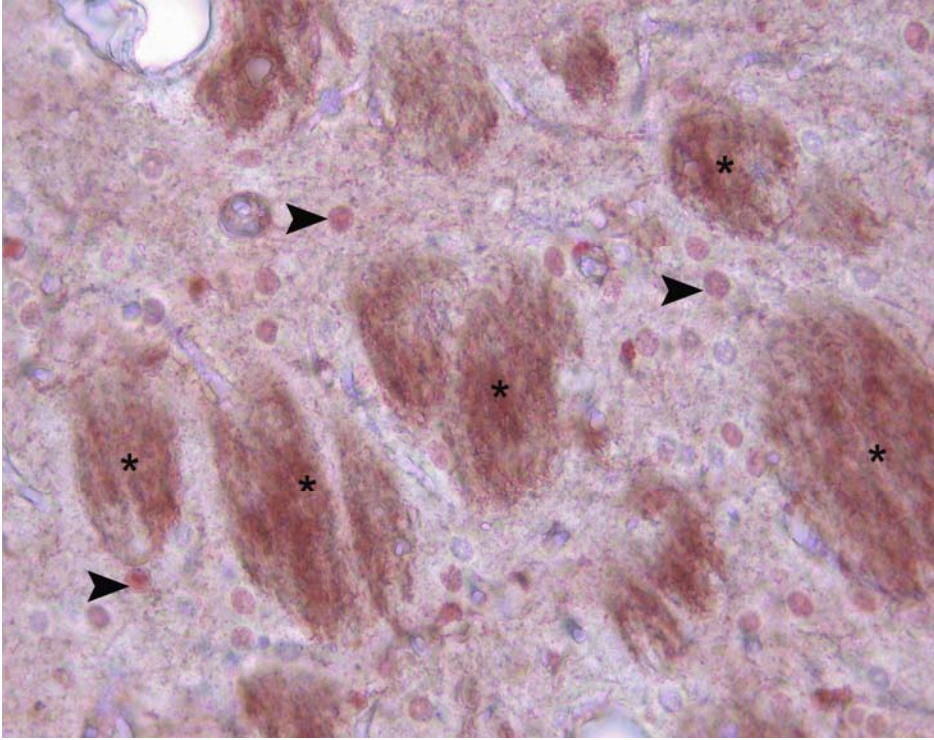
4.4.4. Caspase-3 İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi



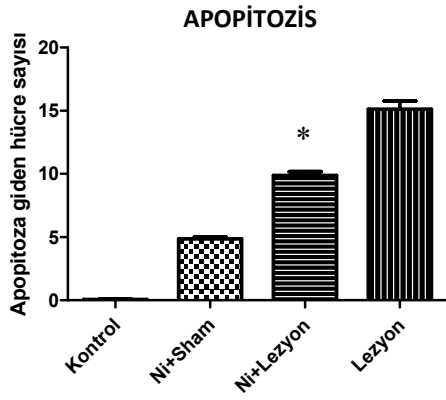
Resim 18: Lezyon alanında apoptotik hücre toplulukları. Monosit ve makrofaj hücre infiltrasyonu, dejenere olan ve apoptotik nöronlardan oluşan nöronal debris (X40).



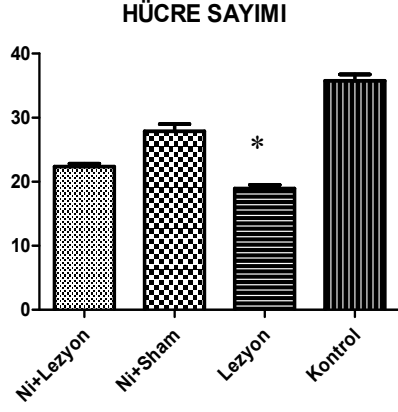
Resim 19: Lezyon grubunda, ventrikülü çevreleyen ependimal hücrelerde (► beyaz) ve periventriküler alanda caspase -3 pozitif boyanmış hücreler (►), Lateral ventrikül (*) (X20).



Resim 20: Lezyon grubunda apoptozis gösteren nöronlar (►) ve nörofibriller (*) (X40).



Grafik 12: Nikotin alan lezyonlu grupta anlamlı apoptozis ($p < 0,05$) azalması.



Grafik 13: OHDA lezyonu sonucu normal hücre sayısındaki anlamlı ($p<0,05$) azalma.

Her gruptan seçilen 7 hayvanda yapılan sayımlarda apoptotik hücreler; OHDA lezyonlu gruplarda kontrol ve sham lezyonlu gruplara göre anlamlı olarak artmıştı. Bununla birlikte nikotin alan OHDA lezyonlu grupta apoptotik hücre sayısı nikotin almayan gruba göre anlamlı olarak ($p<0,05$) daha az sayıda idi. Normal nöron sayısı ise OHDA lezyonlu gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0,05$) olarak azalmıştı.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada nikotin bağımlılığı oluşturulan Wistar ratlarda Parkinson hastalığının prelinik fazı oluşturulduktan sonra, nikotine karşı gelişen bağımlılık potansiyelleri ve nikotinin premotor fazda lokomasyon ve davranış üzerine etkileri incelendi. Histopatolojik bulgular eşliğinde nikotinin prelinik parkinson modelinde izlenen nörodejenerasyonda oluşturduğu nöroprotektif etki değerlendirildi.

Nikotin bağımlılığı

Çalışmamızda sigara kullanımına benzer şekilde kronik nikotin alımına maruz bırakılan deneklerde lezyon sonrası ilk hafta boyunca toplam su ve nikotinli su tüketiminde azalma görüldü. Aynı etkinin sham lezyonlu hayvanlarda da gözlenmesi ve yavaşça eski düzeyine gelmesi, bu yanıtların lezyona özgü olmadığını olasılıkla postoperatif genel durum bozukluğuna bağlı bir azalma sonucu geliştiğini düşündürmüştür. Ancak lezyon sonrası 4. haftada striatal 6-OHDA lezyonlu grupta yer alan ratlarda istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte nikotin alımında belirgin bir azalma izlendi.

PH'da izlenen nörodejeneratif sürecin motor bulgular ortaya çıkmadan 6-8 yıl önce başladığı (6, 7), son yıllarda premotor veya prelinik dönem olarak tanımlanan bu erken evrede anosmi, ağrı, depresyon gibi non-motor semptomların ortaya çıktığı bilinmektedir (54, 55). Shahi ve Menza yaptıkları çalışmalarda prelinik dönemde izlenen bulgular arasında hastaların bir kısmında sigarayı bırakma eğilimi veya sigaraya karşı isteksizlik bildirmişlerdir (175, 176). Çalışmamız sonunda elde edilen bulgular da preparkinson dönemindeki nikotinden uzaklaşma veya tikslenme eğilimi konusundaki soru işaretlerini arttırmıştır.

Sigara bağımlısı olan insanlarda spontan olarak sigaradan tikslenme eğilimi görülmezken Parkinson hastalarının bir kısmında prelinik dönemde görülen sigara kullanımına karşı isteksizlik, tikslenme veya sigarayı bırakma davranışının nedeni tam olarak bilinmemektedir. Nikotinin, Parkinson hastalığı kliniğini dopamin artışına neden olarak düzeltilmesine karşın hastalarda izlenen prelinik parkinson döneminde bağımlı oldukları halde nikotini bırakma eğilimi konusunda henüz yeterli klinik ve deneysel çalışma yapılmamıştır. Sigara içme davranışının motivasyonel, emosyonel ve motor gibi farklı alanlarda etkilerinin olması durumu daha karmaşık hale getirmektedir.

Nikotinin ödüllendirici etkisinden; PPN'dan (pedunkülopontin nukleus) ventral tegmental alana (VTA) uzanan projeksiyonlar sorumlu tutulmaktadır (177, 178). Nikotin mezolimbik alan, striatum ve frontal kortekste dopamin artışına neden olmaktadır. VTA ve nukleus akumbense projekte olan dopaminerjik nöronlar ilaca bağlı ödüllendirme, haz alma reaksiyonunda önemli fonksiyonlara sahiptir (179, 130). Nikotin, MSS'de nikotinic reseptörlere bağlanarak dopamin miktarını arttırmakta; dopamin ise haz almayı artırarak nikotini yeniden kullanma isteği oluşturmaktadır (180, 181). Ancak Janhunen ve arkadaşları tarafından nikotinin öncelikle mezolimbik yolak üzerinden etkili olduğu, nigrostriatal ve mezolimbik yollarda görev alan nAChRs'in farklı karakterlere sahip olup hastaların bağımlılık özelliklerinin buna bağlı farklılıklar gösterebileceği ileri sürülmüştür (182).

Parkinson hastalarında nikotin bağımlılık potansiyelinin düşük olması ise sadece sigaranın parkinsondan koruyucu etkisine bağlanmış ve nikotinin PH'daki klinik bulgular üzerine etkileri daha çok sigara kullanmayan kişilerin PH'a yakalandığı şeklinde açıklanmıştır. Ancak preklinik dönemde izlenen sigaradan uzaklaşma davranışının altında daha farklı bir patofizyolojik süreç olabilir. Bu süreci inceleyen klinik ve deneysel çalışmalar henüz yeterli değildir. Bizim çalışmamızda da histolojik inceleme için deneyi lezyon sonrası 4. haftada sonlandırmak zorunda kalmamız lezyonun, nikotin alımına olan etkisini tam olarak değerlendirmemizi güçleştirmiştir. Bu nedenle nikotin bağımlılığı ve PH arasındaki ilişkiyi araştıran daha uzun süreli ve daha geniş kapsamlı klinik ve deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Nikotinin Lokomotor Aktiviteye Etkisi

Çalışmamızda insandaki premotor dönemi hayvanda oluşturmak için parsiyel bilateral striatal 6-OHDA lezyonu oluşturularak NAc (ventral striatum), mezolimbik ve nigrostriatal yollardaki dopamin salınımı indirek yolla engellendi. Nikotin almayan lezyonlu hayvanlarda, daha çok tekrarlayıcı karakterde taranma, çiğneme, koklama, doğrulma gibi stereotipik hareketlerde artış olduğu izlendi. Nikotin ise özellikle vertikal (doğrulma) harekette anlamlı olmakla birlikte tüm stereotipik hareketleri preparkinson modelinde azalttı. Aksine ambulator (gezinme) ve horizontal hareketleri anlamlı olarak arttırdı. Kat edilen toplam mesafede de aynı şekilde nikotin alan lezyonlu grupta anlamlı artış saptandı.

Nikotinin nöroprotektif etkisi *in vivo* ve *in vitro* deneysel modellerde gösterilmiştir (3). Parkinson hastalığında nikotinin etkilerini inceleyen Quik klinik çalışmalarda (14) Bordia ise hayvan modelinde (183) nikotinin L-Dopa tedavisinin komplikasyonlarından biri olan istemsiz anormal hareketleri azalttığını göstermiştir. Doğu, Hanağası ve Villafane gibi bir çok araştırmacı nikotinin Parkinson hastalığının kliniğinde iyileştirici rol aldığını gösteren

çalışmalar yayınlamıştır (135, 136, 137). Nikotinin postensefalitik parkinsonizm, erken yaşta başlayan Parkinson (9, 10) ve distonide (132) semptomatik yarar sağladığı ileri sürülmüştür. Livingstone, nikotik reseptörlerin (nAChRs) somatodendritik ve terminal bölgelerde hücre ekstabilesi, dopamin salınımı ve nöronların striatal sonlanımlarını etkileyerek farklı lokomotor etkiler oluşturduğunu bildirmiştir (184). King ve arkadaşları kronik nikotin alımının özellikle mezolimbik yolakta dopamin metabolizmasını arttırarak lokomotor aktiviteyi arttırdığını göstermiştir (185). Ancak preparkinson döneminde nikotinin etkilerine yönelik bir çalışma yapılmamıştır. Çalışmamızda elde edilen bulgular PH'da nikotine bağlı görülen klinik düzelme ile korelasyon göstermiş ve prelinik fazda da nikotinin lokomotor aktivite üzerinde iyileştirici etkilere sahip olabileceğine işaret etmiştir.

Nikotinin Nöroprotektif Etkisi

Sigara içenlerde PH'nın insidansının beklenmedik bir şekilde düşük olması, hastalığın progresyonunu yavaşlatmak ve sağaltımı sağlamak için araştırmacıları nikotinin de içinde bulunduğu potansiyel nöroprotektif ajanlara yönlendirmiştir. Bu bakışın doğal sonucu olarak, son yıllarda tanımlanan premotor fazda; henüz başlamış olan nörodejenerasyona ve motor bozukluğun dışında, duysal, otonom ve emosyonel semptomlara karşı koruyucu tedavilerin geliştirilmesi önem kazanmıştır. Bu amaçla çalışmamızda, nikotinin klinik bulgularda oluşturduğu iyileştirici etkinin yanı sıra nöroproteksiyona yaptığı katkıyı da göstermek amacıyla deneklerin striatumları histopatolojik açıdan değerlendirildi.

Nörodejenerasyon ve nikotinin nöroprotektif etkilerini değerlendirmek amacıyla nikotin bağımlısı olan lezyonlu hayvanlar ve kontrollerde apopitoza uğramış hücre sayısı incelendi. Tüm gruplarda önce H&E ile genel bir hücre sayımı yapıldı. Toksin etkisiyle oluşan lezyon alanında yaygın lenfosit hücre infiltrasyonu ve diğer inflamatuvar süreçler gözlemlendi ve Caspas-3 antikoru kullanarak yapılan boyama sonucu apopitoza giden hücreler tespit edildi. Nöronal mikrotübül yapılarının sağlamlığı MAP-2 boyama kullanılarak gösterildi. Nikotin alan lezyonlu deneklerde kontrol grubuna göre apopitoza uğramış hücre sayısında anlamlı ($p<0,05$) azalma görüldü.

Preparkinson fazda patolojik değişikliklere bakıldığında en azından frontal korteksde biyokimyasal bozulmanın başladığı ve bu süreçte proteinlerinin oksidatif hasara uğradığı, tirozin hidroksilaz seviyesinin azaldığı, proteinlerdeki postranlasyonel modifikasyonun bozulduğu bildirilmiştir (186). Nikotinin PH'da nöroprotektif etkili olduğuna dair birçok yayın olmakla birlikte prelinik dönemde nörodejeneratif sürece yapabileceği katkı henüz araştırılmamıştır.

Chapman, sigara içmenin nikotinic kolinerjik reseptörlerde upregülasyon oluşturup ubikutin-protozom sisteminin aktivitesinde artışa yol açarak PH riskini azalttığını belirtmiştir (187). Nikotinin α -6 nAChRs üzerinden nigrostriatal hasara karşı koruyucu rol alabileceği Quik tarafından bildirilmiştir (121). Copeland ve arkadaşları nikotinin antiapoptotik etkisi olduğunu ve nörodejenerasyonu birincil olarak bu etki ile önlediğini ileri sürmüştür (188). Benzer şekilde Park ve arkadaşları nikotinin dopaminerjik nöronlar üzerinde nöron koruyucu etki oluştururken anti-inflamatuar mekanizmaları kullandığını bildirmiştir (189). Çalışmamızda elde edilen bulgular, nikotinin apoptozisi önleyerek nöroproteksiyona katkı sağladığını gösteren literatür bilgileri ile korelasyon göstermiştir. Bu açıdan değerlendirildiğinde nikotinin apoptozisi azaltarak preparkinson dönemindeki nörodejenerasyonu önleyebileceği ve hastalığın progresyonunu yavaşlatabileceği izlenimi elde edilmiştir. Ancak bu konudaki bilgileri güçlendirmek için prelinik fazda oluşan patofizyolojik değişiklikler ve nöroprotektif etkenler hakkındaki deneysel çalışmaların sayısı ve kapsamının artırılması gerekmektedir.

Nikotinin Nörodavranışsal Etkileri

Çalışmamızda preparkinson döneminde depresyon benzeri davranışları değerlendirmek amacıyla yapılan zorlu yüzme testinde lezyonlu grupta nikotin, 2. günde hareketsiz kalma zamanını anlamlı olarak ($p<0,05$) arttırdı. Lezyon tek başına depresif etki göstermediği halde nikotin depresif davranış eğilimi oluşturdu ve lezyon ile nikotin birlikteliğinde bu etki anlamlı olarak ($p<0,05$) ortaya çıktı. Anksiyete benzeri davranışların değerlendirildiği yükseltilmiş artı labirent testinde elde edilen sonuçlarda; bilateral striatum lezyonu anksiyete skorlarında artışa yol açtı ve nikotin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da lezyona bağlı anksiyetede azalmaya neden oldu. Ayrıca lokomotor aktivite değerlendirmesinde; ratlarda lezyon sonrası, vertikal hareket başta olmak üzere stereotipik hareketlerin anlamlı olarak ($p<0,05$) artması lezyon sonrası deneklerde anksiyetenin arttığını gösterdi. Bununla birlikte nikotin alan ratlarda stereotipik hareketlerin anlamlı olarak ($p<0,05$) azalması, nikotinin anksiyolitik etkisinin göstergesi olabilir.

Parkinson hastalığında görülen otonomik disfonksiyon, psikiyatrik komplikasyonlar, ağrı, yorgunluk ve uyku problemlerinin yaşam kalitesini bozan majör non-motor semptomlar olduğu bilinmektedir (190). Menza ve arkadaşları depresyon ve anksiyetenin hastalığın psikolojik etkisi veya L-Dopa'nın yan etkisinden çok altta yatan nörokimyasal değişikliklere bağlı olabileceğini bildirmiştir (191, 192). Son yıllarda duygudurum değişikliklerinin premotor fazda görüldüğü ve ileri evre Parkinson hastalığında ise sıklıkla L-Dopa'nın da etkisiyle artış gösterdiği kabul edilmektedir. Hastalarda tanı almadan önceki dönemde %40-

60'ı geçmeyen dopamin depleasyonu sonucu kişilik değişikliklerinin ortaya çıktığı Brook tarafından da rapor edilmiştir (193).

Sigara kullanımı ve nikotinin, insan ve hayvanlarda duygudurum üzerinde farklı etkilere sahip olabileceği birçok çalışmada gösterilmiştir. Nikotin yamalarının sigara içmeyenlerde depresyon semptomlarını hafiflettiği (194) ve depresif hastaların sigaraya başlayarak semptomları kendi kendine azaltmaya çalıştıkları yönünde çalışmalar bulunmaktadır (195). Bununla birlikte Glassman ve arkadaşları sigarayı bırakmanın depresif semptomları alevlendirebileceğini bildirilmişlerdir (196). Fakat preparkinson döneminde görülen içme kapanma, mutsuzluk gibi non-motor semptomlar üzerinde nikotinin oluşturduğu etki araştırılmamıştır.

Çalışmamızda preparkinson dönemi oluşturulan hayvanlarda nikotinin depresyonu arttırmış olması literatür bilgileriyle çelişmektedir. Saptanan bulgular PH'da prelinik dönemde görülen depresyonun nikotin alımı ile artabileceğini göstermiştir. Ancak PH'da nikotin alan ve almayan gruplar arasında depresyon sıklığını araştıran klinik ve deneysel çalışmalar henüz yetersizdir. Bu nedenle patofizyolojik ve klinik değişiklikleri değerlendiren daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır. Hsu ve arkadaşları tarafından bildirilen bir çalışmada sigara içmenin anksiyeteyi azaltma etkisi olduğu ve bu etkide nikotinin rol aldığı üzerinde durulmuştur (197). Araştırmamız sonucunda elde edilen bulgular nikotinin anksiyolitik etkili olduğunu gösteren literatür bilgileri ile korelasyon göstermiştir.

Bu sonuçlar; Corrigall tarafından tespit edilen mezolimbik dopaminerjik yolağın nikotinin motivasyonel etkisini düzenlediği (198) bilgisini desteklemekle birlikte dopaminin kısmi azlığı sonucu oluşan dengesizliğin nikotin alımı ile birlikte serotonine yönüne kaydığı ve tüm bu aminler arasında mezolimbik/mezokortikal yollarda reseptör düzeyinde etkileşim olduğu hipotezini desteklemektedir.

Motive edilmiş davranışlarda ventral striatumun ve anksiyetede 5-HT'in kritik rol oynadığı bilinmektedir (199). Dellu ve Piazza, dopaminerjik ve kolinerjik beyin sistemlerinin psikomotor aktivasyon, yabancı ortama cevap, motivasyon, bağımlılık ve stresle olan bağlantısına araştırmalarıyla ışık tutmuştur (200, 201). Ancak çalışmamızda yaptığımız ventral striatum parsiyel lezyonunun (premotor parkinson modeli) anksiyete skorlarını arttırması ve nikotinin bu etkiyi azaltması; dopaminerjik, serotonerjik ve kolinerjik yolların NAc'de oluşturdukları etkileşimin karmaşık bir boyutunun olduğunu göstermiştir. Elde edilen veriler reseptör düzeyinde oluşan bu etkileşimin tam olarak netleşmediğini bir kez daha ortaya koymuştur. Parkinson hastalığının patogeneğinde dopamin dışında nikotin, melatonin ve serotonin gibi aminlerin de rol alabileceği ve belkide PH'nın aminerjik sistem hastalığı

olduğuna dair ipuçları elde edilmiştir. Bunun yanı sıra öncelikle nikotin ve dopaminin reseptör düzeyinde etkileşim içinde olabileceği ve progresyon devam ederken dopamin ile birlikte nikotinik reseptörlerin de dejenerasyona uğrayabileceği izlenimi elde edilmiştir. Bu bulgular nikotin, dopamin, seratonin ve melatonin gibi nörotransmitterlerin reseptör düzeyinde etkileşim içinde olduğunu gösteren (202) yayınları desteklemektedir.

Son yıllarda bildirilen yayınlarda Parkinson hastalığı tanımı değişmekle birlikte tedavide ve nroproteksiyonda kullanılabilir ajanlar konusunda ayrıntılı çalışmalar sürdürülmektedir. Fakat aminerjik nörotransmitterler ve reseptörlerinin etkileşimi konusunda yapılan çalışmalar yetersizdir. Bu bakış açısıyla yapılacak bilimsel çalışmalar tedavi ve prognoz açısından yararlı olacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

PH, bradikinezi, hipo/akinezi, rijidite, tremor ve postural instabilite gibi motor parkinsonizm bulgularıyla seyreden nigral dejenerasyonun yol açtığı striatal dopaminerjik denervasyon sonucu oluşan klinik sendromdur. Son on yılda ise motor semptomların yanında bir çok hastanın aslında nigral (apati, disfori, hafif kognitif bozukluk) ve ekstra-nigral (hiposmi, ağrı, yorgunluk, otonomik disfonksiyon, uyku bozuklukları, davranış ve duygudurum bozuklukları, bilişsel kayıp ve /veya demans) dejenerasyon sonucu oluşan non-motor semptomlardan yakındığı gerçeği ortaya çıkmıştır (203, 204).

Non-motor semptomlar ise dopaminin %40-60'ı geçmeyen kaybı sonucu yine son yıllarda tanımlanmış olan premotor dönemde ortaya çıkmaktadır. Premotor fazda sigara kullanımı hastaların çok az bir kısmında mevcuttur ve gelecekte parkinson hastalığı tanısı alacakların çoğu nikotini bırakma davranışı sergilemektedir. Nikotinin parkinsonda nöroprotektif etkili olduğuna dair birçok yayın olmakla birlikte sigaranın dolayısıyla nikotinin premotor dönemde nörodejenerasyon, bağımlılık, davranış üzerinde oluşturduğu değişiklikler net olarak bilinmemektedir.

Bu çalışmada; nikotine maruz kalındığında preparkinson modelinde nörodejenerasyonun nasıl seyrettiği, davranış ve emosyonel durumun nasıl etkilendiği ve lokomotor aktivitedeki değişikliklerin neler olduğu gibi sorulara yanıt bulunmaya çalışılmıştır.

Elde edilen sonuçlarda; preparkinson hayvan modelinde anlamlı olmasa da nikotinden uzaklaşma eğilimi görülmüştür. Lezyon sonrası daha uzun (dört haftadan uzun) süreli deneylerin yapılması bu eğilimin devam edip etmediğini anlamak açısından yararlı olacaktır. Preparkinson aşamasında nikotinin parsiyel lezyonlu ratlarda, özellikle stereotipik davranışları azalttığı, ambulasyonu anlamlı olarak arttırdığı dolayısıyla iyileştirici etki gösterdiği gözlenmiştir. Emosyonel ve davranışsal açıdan ise prelinik fazda depresyona benzer davranışları arttırırken anksiyolitik etkisinin de olduğu görülmüştür. Ayrıca nikotinin nörodejenerasyonu yavaşlattığına dair histopatolojik veriler elde edilmiştir.

PH tanımı son on yıldaki bilgiler ışığında artık değişmiş; sadece dopaminerjik değil seratonerjik, nöradrenarjik, kolinerjik ve diğer santral nörotransmitterlerin de etkilendiği multisistem dejenerasyonla giden progresif klinik sendrom olarak yayınlarda yerini almıştır (62).

Bu çalışmada nikotinin n6rodejenerasyonu azalttığı, lokomotor aktiviteyi arttırdığı ve anksiyolitik etki g6stererek hastalığın sağaltımında 6nemli rol alabileceği g6sterilmiştir. T6m bu etkilere ek olarak hastaların premotor fazda nikotini bırakma yada tikslenme eğilimi g6stermeleri ve nikotinin preparkinson modeli deneklerde depresyon oluşturması gibi bulgular nikotin, dopamin ve seratonin gibi aminlerin resept6r d6zeyindeki etkileşimlerinin çok daha fazla bilinmeyen y6n6n6n olduğunu ve bu konuda kapsamlı araştırmaların yapılması gerektiğini g6z 6n6ne sermiştir.

7. ÖZET

Parkinson hastalığı, substantia nigrada progresif dopaminerjik nöron kaybı, striatal dopamin düzeylerinde azalma ve ekstrapiramidal motor fonksiyonlarda bozulma ile sonuçlanan kronik nörodejeneratif bir bozukluk olarak bilinmekle birlikte preklinik fazı son on yıl içinde tanımlanmıştır. Parkinson hastalarında istirahat tremoru, bradikinezi, rijidite ve postural instabiliteden oluşan kardinal motor bulguların dışında içe kapanma, depresyon, anksiyete gibi emosyonel değişikliklerinin de geliştiği görülmektedir.

Son yıllarda yapılan araştırmalarda PH'da nikotinin antiinflamatuvar, nöroprotektif, nöromodulator etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Klinik ve deneysel çalışmalar, nikotinin motor belirtileri düzeltici yönde etkilerinin olduğunu göstermiş fakat premotor belirtilerle ilişkisi incelenmemiştir.

Bu çalışmada stereotaksik olarak, striatal bölgeye 6-OHDA enjekte edip hem striatumda hem de retrograd difüzyon ile VTA'da lezyon oluşturulmuştur. Bu model presemptomatik fazın deneysel modeli olarak kabul edilmektedir. Deneklere yükseltilmiş artı labirent, Porsolt'un zorlu yüzme testi ve lokomotor aktivite testleri uygulanmıştır. Sakrifiye edilen deneklerin striatuları immunohistokimyasal olarak incelenmiş ve oluşturulan üç grup ve kontrol grubu arasında nikotin tüketimindeki farklılık incelenmiş ayrıca nikotinin emosyonel, davranışsal etkileri ve nörodejenerasyondaki fonksiyonu araştırılmıştır.

Elde edilen sonuçlarda nikotin tüketiminde gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Nikotinin nörodejenerasyonun bir parçası sayılan apoptozisi anlamlı olarak azalttığı görülmüştür. Nikotin, 6-OHDA lezyonlu grupta depresyonu anlamlı olarak arttırırken lokomasyon paterninde stereotipik hareketleri azaltmıştır.

Sonuç olarak bu çalışma; nikotine maruz kalındığında premotor parkinson modelinde kognisyon, bellek, davranış, depresyon, anksiyete ve hareket bozukluklarının nasıl etkilendiğine ve nikotinin nörodejenerasyondaki etkisine ışık tutmuştur.

Anahtar kelimeler: Nikotin, presemptomatik faz, deneysel parkinson modeli.

8. ABSTRACT

Parkinson's Disease has been defined as a chronic degenerative disorder with consequent progressive dopaminergic neuron loss, decrease in striatal dopamine levels and impairment of extrapyramidal functions and its preclinical phase has only been described recently. In patients with Parkinson's Disease (PD), apart from the cardinal symptoms of resting tremor, bradikinesia and rigidity, emotional changes such as withdrawal, depression and anxiety have been observed.

In recent studies, it has been demonstrated that nicotine has anti-inflammatory, neuroprotective and neuromodulatory effects in PD. Clinical and empirical studies have shown that nicotine has beneficial effects on motor symptoms; however, its relationship with premotor symptoms has not been explored.

To achieve this aim, we have injected the striatal area with 6-OHDA to create a lesion both at the striatum and at VTA through retrograde diffusion. This model has been accepted as the experimental model of the presymptomatic phase. Elevated plus maze, Porsolt's forced swimming test and locomotor activity test was applied to the animals. The striata of the sacrificed animals were analyzed immunohistochemically. The differences in nicotine consumption and the emotional and behavioral effects of nicotine on neurodegeneration were investigated across three groups and the control group.

The data has revealed no difference in terms of nicotine consumption. Nicotine was observed to decrease apoptosis which is part of neurodegeneration. Nicotine was seen to cause an increase in depression in the 6-OHDA lesion arm and a decrease in the stereotypical movements within the locomotion pattern. In conclusion, this study has shed light on the effect of nicotine exposure on cognition, memory, behavior, depression, anxiety and movement disorders and the effect of nicotine on neurodegeneration in the premotor Parkinson's model.

Key words: Nicotine, presymptomatic phase, experimental Parkinson's model.

9. KAYNAKLAR

- 1- Samii, A. et al. Parkinson's disease. *Lancet* 2004; **363**, 1783–1793
- 2 -Olanow, C.W. The scientific basis for the current treatment of Parkinson's disease. *Annu Rev Med* 2004;**55**, 41–60
- 3-Savitt, J.M. et al. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: molecules to medicine. *J. Clin Invest* 2006; **116**, 1744–1754
- 4-Hornykiewicz O, Kish SJ. Biochemical pathophysiology of Parkinson's disease. *Adv Neurol* 1987;**45**:19-34
- 5-Tissingh G,Bergmans P,Booij J, Winogrodzka A,van Royen EA,Stoof . Drug naive patients with Parkinson's disease in Hoehn and Yahr stage I and II show a bilateral decrease in striatal dopamine transporters as revealed by (123 I)b-CIT SPECT. *J Neurol* 1998;**245**:14-20
- 6-Marek K, Innis R, Van Dyck C, Fussell B, Early M, Eberly S, et al. (123 I) B-CIT SPECT imaging assessment of the rate of Parkinson's disease progression. *Neurology* 2001;**57**:2089-94
- 7-Morrish PK, Rakshi JS, Bailey DL, Sawle GV, Brooks DJ. Measuring the rate of progression and estimating the premotoral period of parkinson's disease with (18 F)dopa PET. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;**64**:314-9
- 8- Fahn S, Jankovic J, Hallet M, Jenner M, Tanner P. Principles and Practice of Movement Disorders . Churhill Livingstone 2007; Chapter 2, Part 5, pp 105
- 9- Ishikawa A, Miyatake T.,Effects of smoking in patients with early-onset Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 1993 Jul;**117**(1-2):28-32
- 10- Fagerström KO, Pomerleau O, Giordani B, Stelson F., Nicotine may relieve symptoms of Parkinson's disease., *Psychopharmacology (Berl)*. 1994 Sep;**116**(1):117-9
- 11-Thacker EL, O'Reilly EJ, Weisskopf MG, et al. Temporal relationship between cigarette smoking and risk of Parkinson disease. *Neurology* 2007;**68**:764–768
- 12-Quik M., Smoking, nicotine and Parkinson's disease. *Trends Neurosci.* 2004 Sep;**27**(9):561-8.
- 13- Zhou, F.M. et al. Endogenous nicotinic cholinergic activity regulates dopamine release in the striatum. *Nat. Neurosci.*2001; **4**:1224–1229

- 14-** Quik M, Huang LZ, Parameswaran N, Bordia T, Campos C, Perez XA, Multiple roles for nicotine in Parkinson's disease. *Biochemical Pharmacology* 2009;**78**:677-685
- 15-** Baron JA, Beneficial effects of nicotine and cigarette smoking: the real, the possible and the spurious. *Br Med Bull* 1996; **52**: 58–73
- 16-** Tadaiesky MT, Dombrowski PA, Figueiredo PC, Cargnin-Ferreira E, Da Cunha C, Takahashib NR, Emotional, cognitive and neurochemical alterations in a premotor stage model of Parkinson's Disease, *Neuroscience* 2008;**156**:830-840
- 17-** Kessler II, Diamond EL, Epidemiologic studies of Parkinson's disease. I. Smoking and Parkinson's disease: a survey and explanatory hypothesis., *Am J Epidemiol.* 1971 Jul;**94**(1):16-25.
- 18-** Haack DG, Baumann RJ, McKean HE, Jameson HD, Turbek JA. Nicotine exposure and Parkinson disease. *Am J Epidemiol* 1981;**114**:191–200.
- 19-** Powers KM, Kay DM, Factor SA, Zabetian CP, Higgins DS, Samii A, Nutt JG, Griffith A, Leis B, Roberts JW, Martinez ED, Montimurro JS, Checkoway H, Payami H., Combined effects of smoking, coffee and NSAIDs on Parkinson's disease risk, *Mov Disord.* 2008 Jan;**23**(1):88-95.
- 20-** Newhouse PA, Potter A, Levin ED, Nicotinic system involvement in Alzheimer's and Parkinson's diseases. Implications for therapeutics., *Drugs Aging.* 1997 Sep;**11**(3):206-28
- 21-** Ferrea S, Winterer G, Neuroprotective and Neurotoxic Effects of Nicotine. *Pharmacopsychiatry* 2009; **42**: 255 – 265
- 22-** Rinne JO, Myllykylä T, Lönnberg P, Marjamäki P., A postmortem study of brain nicotinic receptors in Parkinson's and Alzheimer's disease. *Brain Res.* 1991 Apr **26**;547(1):167-70.
- 23-** Court JA, Piggott MA, Lloyd S, Cookson N, Ballard CG, McKeith IG, Perry RH, Perry EK, Nicotine binding in human striatum: elevation in schizophrenia and reductions in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Alzheimer's disease and in relation to neuroleptic medication. *Neuroscience* 2000;**98**(1):79-87.
- 24-** Kas A, Bottlaender M, Gallezot JD, Vidailhet M, Villafane G, Grégoire MC, Coulon C, Valette H, Dollé F, Ribeiro MJ, Hantraye P, Remy P, Decrease of nicotinic receptors in the nigrostriatal system in Parkinson's disease. *J Cereb Blood Flow Metab* 2009 Sep;**29**(9):1601-1608.
- 25-** Tohgi H, Utsugisawa K, Yoshimura M, Nagane Y, Mihara M, Alterations with aging and ischemia in nicotinic acetylcholine receptor subunits alpha4 and beta2 messenger RNA

expression in postmortem human putamen. Implications for susceptibility to parkinsonism. *Brain Res* 1998 Apr 27;791(1-2):186-90.

26-Martin-Ruiz CM, Piggott M, Gotti C, Lindstrom J, Mendelow AD, Siddique MS, Perry RH, Perry EK, Court JA., Alpha and beta nicotinic acetylcholine receptors subunits and synaptophysin in putamen from Parkinson's disease., *Neuropharmacology*. 2000 Oct;39(13):2830-9.

27-Allam MF et al. Smoking and Parkinson's disease: systematic review of prospective studies. *Mov Disord* 2004; **19**, 614–621

28-Zhou FM, Wilson CJ, Dani JA, Cholinergic interneuron characteristics and nicotinic properties in the striatum. *J Neurobiol* 2002; **53**, 590–605

29-Dani JA, Bertrand D, Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2006; **47**, 699–729

30-O'Neill MJ. et al. The role of neuronal nicotinic acetylcholine receptors in acute and chronic neurodegeneration. *Curr. Drug Target CNS Neurol Disord* 2002; **1**, 399–411

31-Mudo G, et al. Nicotinic receptor agonists as neuroprotective neurotrophic drugs. Progress in molecular mechanisms. *J Neural Transm* 2007; **114**, 135–147

32-Meissner W. et al. Neuroprotective strategies for Parkinson's disease: conceptual limits of animal models and clinical trials. *Trends Pharmacol Sci* 2004; **25**, 249–253

33-Zanardi A, et al. Nicotine and neurodegeneration in ageing. *Toxicol Lett* 2002; **127**, 207–215

34-Park HJ, Lee PH, Ahn YW, Choi YJ, Lee G, Lee DY, Chung ES, Jin BK. Neuroprotective effect of nicotine on dopaminergic neurons by anti-inflammatory action. *Eur J Neurosci*. 2007 Jul;26(1):79-89

35- Ono K, Hirohata M, Yamada M. α -Synuclein Assembly as a Therapeutic Target of Parkinson's Disease and Related Disorders. *Current Pharmaceutical Design*, 2008: 14; 3247-3266

36- Linazasoro G, New ideas on the origin of L-dopa-induced dyskinesias: age, genes and neural plasticity. *Trends Pharmacol Sci* 2005; **26**, 391–397

37- Choonara YE, Pillay V, Toit LC, Modi G, Naidoo D, Ndesendo VMK, Sibambo SR. Trends in the Molecular Pathogenesis and Clinical Therapeutics of Common Neurodegenerative Disorders. *Int J Mol Sci* 2009; **10**; 2510-2557

38- Lester HA, Xiao C, Srinivasan R, Son DC, Miwa J, Pantoja R, Banghart RM, Dougherty DA, Goate MA, Wang CJ. Nicotine is a selective pharmacological chaperone of acetylcholine

receptor number and stoichiometry. Implications for Drug Discovery. The AAPS Journal, 2009 :Vol. 11, No. 1

39-Tan EK, and Jankovic J. Genetic testing in Parkinson's disease : promises and pitfalls, Arch Neurol 2006 , vol 63, pp .1232-1237

40- de Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease. Lancet Neurol 2006 Jun;5(6):525-35

41- Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, et al. Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. Science 1983;219:979–980.

42-Evans AH, Lawrence AD, Potts J, et al. 2006 Relationship between impulsive sensation seeking traits, smoking, alcohol, and caffeine intake, and Parkinson's disease, J Neurol Neurosurg Psychiatry, vol.355, pp.896-908

43-Fahn S, Jankovic J, Hallet M, Jenner M, Tanner P. Principles and Practice of Movement Disorders . Churhill Livingstone Chapter 2, Part 5, pp 111 , 2007.

44-Hernan MA, Zhang SM, Rueda-de Castro AM, et al: Cigarette smoking and the incidence of Parkinson's disease in two prospective studies. Ann Neurol 2001;**50**: 780-786

45-Ton TH, Heckbert SR, Longstreth WT Jr, et al: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson's disease. Mov Disort 2006;21:964-969

46- Hardy J, Cai H, Cookson MR, et al, Genetics of Parkinson's disease and parkinsonism, Ann Neurol, 2006 vol 60, pp.389-398

47- Lesage S, Brice A. Parkinson's disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors. Hum Mol Genet 2009. 18:R48-59.

48-Feng J, 2006 Microtubule : a common target parkin and Parkinson's disease toxins, Neuroscientist, vol.12, pp. 469-476

49-Deng H, Le WD, Xie WJ, and Jankovic J, Examination of the SLITRK1 gene in Caucasion patients with Tourette syndrome, Acta Neurol Scan, 2006 vol.114,pp.400-402

50- Jankovic J: Pathophysiology and clinical assessment of parkinsonian symptoms and signs. In Pahwa R, Lyons K, Koller WC (ed): Hand-book of Parkinson's Disease. New York, Marcel Dekker, 2003, pp 71-107

51- Tolosa E, Wenning G, Poewe W: The diagnosis of Parkinso's disease. Lancet Neurol 2006;**5**:75-86

52- Jankovic J, Lang AE: Movement Disorders:Diagnosis and assesment. In Bredly WG, Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J (eds): Neurology in Clinical Practice, 4th ed. Philaderphia, Butterworth-Heinemann , 2004, pp 293-322

- 53-** Bradley GW, Daroff BR, Fenichel MG, Jankovic J, Neurology in Clinical Practice. In: Shannon MK, ed Movement Disorders (4 th ed.) 2004; 2088
- 54-**Przunkun H: Early diagnosis in Parkinson's disease. J Neural Transm Suppl 1992;**38**:105-114
- 55-**Fahn S. Description of Parkinson's disease as a clinical syndrome. Ann N Y Acad Sci. 2003 Jun;**991**:1-14
- 56-**Gonera EG, Van't Hof M, Berger HJC, Van Weel C, Horstink MWIM. Symptoms and duration of the premotor phase in Parkinson's disease. Mov Disord 1997;**12**:871-876
- 57-**Abbot RD, Ross GW, White LR, et al. Environmental, life style and physical precursors of clinical parkinson's disease: recent findings from the Honolulu-Asia Aging Study. J Neurol 2003;**250**:30-39
- 58-**Haehner A, Hummel T, Hummel C, Sommer U, Junghanns S, Reichmann H. Olfactory loss may be a first sign of idiopathic Parkinson's disease. Mov Disord 2007;**22**:839-842
- 59-**Tolosa E, Compta Y, Gaig C. The premotor phase of Parkinson's disease. Parkinsonism and Related Disorders 2007;**13**:2-7)
- 60-**Chaudhuri KR, Healy DG, Shapira A.H., Fort he national Institute for Clinical Excellence , 2006, Non motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management, Lancet Neurol vol.5, pp.235-245
- 61-**Galvin JE, Pollak J, and Morris JC, 2006 Clinical phenotype of Parkinson disease dementia , Neurology, vol.67, pp.1605-1611
- 62-**Marsh L, McDonald WM, Cumming J, and Ravina B, for the NINDS/NIHM Work Group on Depression and Parkinson's Disease 2006, Provisional Diagnostic criteria for depression in Parkinson's Disease : report for an NINDS/NIHM Work Group Mov Disord, vol. 21, pp. 148-158
- 63--**Fahn S, Jankovic J, Hallet M, Jenner M, Tanner P. Principles and Practice of Movement Disorders . Churhill Livingstone 2007; Chapter 2, Part 4, pp 81
- 64-**Joseph KA, Matsumoto JY, Ahlskog JE: Bening tremulous parkinsonism. Arch Neurol 2006; **63**:354-357
- 65-** Louis ED, Levy G, Mejia Santana H, et al: Risk of action tremor in relatives of tremor dominant and postural instability gait disorders PD. Neurology 2003;**61**:931-936
- 66-**Riley D, Lang AE, Blair RDG, et al: Frozen shoulder and other disturbances in Parkinson's disease .J Neurol Neurosurg Psychiatry 1989;**52**:63-66
- 67-**Williams DR, Watt HC, Lees AJ: Predictors of falls and fractures in bradykinetic rigid syndromes: A retrospective study . J Neurol Neurosurg Psychiatry 2006;**77**:468-473).

- 68**-Giladi N, McDermott MP, Fahn S, et al: Freezing of gait in PD: Prospective assesment of the DATATOP cohort. *Neurology* 2001;**56**:1712-1721
- 69**-Boghen D, Apraxia of lid opening : A rewiew . *Neurology* 1997;**48**:1481-1503
- 70**-Zarow C, Lyness SA, Mortimer JA, Chui HC: Neuronal loss is greater in the locus coeruleus than nucleus basalis and substantia nigra in Alzheimer and Parkinson disease. *Arch Neurol* 2003;**60**(3):337-341
- 71**-Swinn L, Schrag A, Viswanathan R, et al: Sweating dysfunction in Parkinson's disease . *Mov Disord* 2003; **18**:1459-1463).
- 72**-Winge K, Rasmussen D, Werdelin LM: Constipation in neurological diseases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;**74**:13-19)
- 73**-Tabamo RE, Di Rocco A: Alopecia induced by dopamine agonists. *Neurology* 2002;**58**:829-830
- 74**- Lang AE, and Obeso JA, Challenges in Parkinson's disease:restoration of the nigrostriatal dopamine system is not enough. *Lancet Neurol.* 2004; **3**, 309–316
- 75**-Marder K, Tang MX, Alfaró B, et al: Risk of Alzheimer's disease in relatives of Parkinson's disease patients with and without dementia.*Neurology* 1999;**52**:719-724
- 76**-Kovari E, Gold G, Herrmann FR,et al: Lewy body densities in the entorhinal and anterior cingulate cortex predict cognitive deficits in Parkinson's disease . *Acta Neuropathol* 2003;**106**:83-88
- 77**-Hurtig HI, Trojanowski JQ, Galvin J, et al: Alpha-synuclein cortical Lewy bodies correlate with dementia in Parkinson's disease.*Neurology* 2000;**54**(10):1916-1921
- 78**-Isella V, Iurlaro S, Piolti R, et al: Physical anhedonia in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;**74**:1308-1311
- 79**-Okun MS, McDonald WM, DeLong MR:Refractory nonmotor symptoms in male patients with Parkinson disease due to testosterone deficiency: A common unrecognized comorbidity. *Arch Neurol* 2002;**59**:807-811
- 80**-Paleacu D, Schechtman E, Inzelberg R: Association betwenn family history of dementia and hallucinations in Parkinson disease. *Neurology*, 2005;**64**:1712-1715
- 81**-Barnes J, David AS: Visual hallucinations in Parkinson's disease: A rewiew and phenoenological survey. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;**70**:727-733
- 82**-Gallagher DA, Lee AJ, Schrag A.What are the most important nonmotor symptoms in patients with Parkinson's disease and are we missing them? *Mov Disord.* 2010; 25(15): 2493-500

- 83-** Arnulf I, Konofal E, Merino-Andreu M, et al: Parkinson's disease and sleepiness: An integral part of PD .Neurology 2002;**58**:1019-1024
- 84-**Rye DB, Jankovic J: Emerging views of dopamine in modulating sleep/wake state from an unlikely source: PD. Neurology 2002;**58**:341-346
- 85-** Gjerstad MD, Alves G.,Wentzel Larsen T, et al. Excessive daytime sleepiness in Parkinson's disease : is it drug or the disease ? Neurology 2006, vol. 67,pp. 853-858
- 86-** Djaldetti R, Shifrin A,Rogowski Z, et al: Quantitative measurement of pain sensation in patients with Parkinson disease.Neurology 2004;**62**:2171-2175
- 87-**Katzenschlager ve Lees AJ.Olfaction and Parkinson's syndromes: its role in differential diagnosis. Curr Opin Neurol 2004;**17**:417-423
- 88-**Ponsen MM, Stoffers D, Booij J, et al: Idiopathic hyposmia as a preclinical sign of parkinson's disease. Ann Neurol 2004;**56**:173-181
- 89-**Tissingh G, Berendse HW, Bergmans P, et al. Loss of olfactory dysfunction in de novo and treated Parkinson's disease: possible implications for early diagnosis. Mov Disord 2001;**16**:41-46
- 90-**Tolosa E, Gaig C, Santamarta J, Compta Y. Diagnosis and the premotor phase of Parkinson Disease. Neurology 2009;**72**:12-20
- 91-**Braak H, Ghebremedhin E, Rub U, et al: Stages in the development of Parkinson's disease related brain pathology. Cell Tissue Res 2004;**318**:121-134
- 92-**Silveira-Moriyama L, Holton J, Kingsbury A, Ayling H. Petrie A, Sterlacci W, Poewe W, Maier H, Lees AJ, Revesz T: The primary olfactory cortex in idiopathic Parkinson's disease (IPD) and incidental Lewy body disease (ILBD). Mov Disord 2007; **22**:91
- 93-** Olanow W, Stern MB, Sethi K, The scientific and clinical basis for the treatment of Parkinson disease. Neurology 72 (Suppl 4), 2009.
- 94-**Bradley GW, Daroff BR, Fenichel MG, Jankovic J, Neurology in Clinical Practice. In: Shannon MK, ed Movement Disorders (4 th ed.) 2004; 2133
- 95-**Bonucelli U, Piccini P, Del Dotto P, et al: Apomorphine test for dopaminergic responsiveness: A dose assessment study. Mov Disord 1993;8-164
- 96-**Ward CD, Gibb WR, Research diagnostic criteria for Parkinson's disease. Adv Neurol 1990; **53**:245.
- 97-**Jankovic J, Schwartz KS, Ondo W, Re-emergent tremor of Parkinson's disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1999; **67**:646.

- 98-**Braak H, de Vos RA, Bohl J, Del TK: Gastric alpha-synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neurosci Lett* 2006; **396**:67-72
- 99-**Braak H, Del Tredici K. Pathophysiology of sporadic Parkinson's disease. *Fortschr Neurol Psychiatr.*2010;**1**:2-4
- 100-**Yenlik J. Functional anatomy of the basal ganglia , *Mov Disord*, 2002:17; 15-21
- 101-** Seger C A, The basal ganglia in human learning. *Neuroscientist* 2006, 12(4), 285-290
- 102-** Fahn S, Jankovic J, Hallet M, Jenner M, Tanner P. Principles and Practice of Movement Disorders . Churhill Livingstone Chapter 1, Part 3, pp 66 , 2007.
- 103-**Kayaalp OS, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 1.cilt Santral Sinir Sistemi Farmakolojisinin Temelleri 54. Konu sy:729 9.ed. 2000
- 104-**Przedborski S. Pathogenesis of nigral cell death in Parkinson's disease. *Parkinsonism Rel Disord*, 2005; 11: S3-S7
- 105-**Jellinger KA, Mechanisms of cell death in Parkinson's disease and related disorders. *Neurosci News* 1999; 2:27
- 106-**Pan T, Kondo S, Le W, Jankovic J. The role of autophagy-lysosome pathway in neurodegeneration associated with Parkinson's disease. *Brain* 2008; 131:1969.
- 107-** Hopkins SJ, and Rothwell NJ, Cytokines and the nervous system. I: Expression and recognition. *Trends Neurosci.* 1995;**18**: 83–88
- 108-**Olanow and McNaught, Ubiquitin proteasome system and Parkinson's disease ,*Mov Disord*, 2006 :21; 1806-1823
- 109-**Komatsu M, Waguri S, Chiba T, et al. Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice ,*Nature* 2006, vol 441, pp.880-884
- 110-**Olanow CW, and Jankovic J, Neuroprotective therapy in Parkinson's disease and motor complications : a search for pathogenesis- targeted , disease- modifying strategy, *Mov Disord* vol. 2005: 20,suppl. 11, pp. 3-10
- 111-**Quik M, and Di Monte DA, Nicotine administration reduces striatal MPP + levels in mice. *Brain Res.*2001; **917**: 219–224
- 112-**Soto-Otero R, et al. Effects of (-)-nicotine and (-)-cotinine on 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress and neurotoxicity: relevance for Parkinson's disease. *Biochem. Pharmacol.* 2002; **64**: 125-130
- 113-** Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, et al. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects.* 6th edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999.

- 114-** Sayın A, Dopamine reseptörleri ve sinyal iletim özellikleri. Klinik Psikiyatri 2008; 11: 125-134
- 115-**Pivonello R, Ferore D, Lombardini G, et al. Novel insights in dopamine receptor physiology. Eur J Endocrinology, 2007; 159: 13-21
- 116-**Meisenzahl EM, Schmitt GY, Scheuerecker J et al. The role of dopamine for the pathophysiology of schizophrenia. Int Rev Psychiatry 2007; 19: 337-345
- 117-**Sarter M, Parikh V, Choline transporters, cholinergic transmission and cognition. Nat Rev Neurosci, 2005: 6: 48–56
- 118-**Wonnacott S. Presynaptic nicotinic ACh receptors. Trends Neurosci 1997;20:92–98
- 119-** Benowitz NL, Nicotine Addiction. Engl J Med. 2010 June 17; 362(24): 2295–2303
- 120-**Schapira AH, Bezard E, Brotchie J, et al. Novel pharmacological targets for the treatment of Parkinson’s disease. Nat Rev Drug Discov 2006;5:845– 854
- 121-**Quik M, McIntosh JM. Striatal alpha6* nicotinic acetylcholine receptors: potential targets for Parkinson’s disease therapy. J Pharmacol Exp Ther 2006;316:481– 489
- 122-**Balfour DJ, Fagerstrom KO. Pharmacology of nicotine and its therapeutic use in smoking cessation and neurodegenerative disorders. Pharmacol Ther 1996;72:51– 81
- 123-**Quik M., O’Leary K., Tanner C.M. Nicotine and Parkinson’s Disease: Implications for Therapy , Mov Disord. 2008;23:1641-1652
- 124-** Kayaalp OS, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Ganglion Stimule ve Bloke eden İlaçlar Kayaalp 2002: sy 1143
- 125-** Quik M, et al. Localization of nicotinic receptor subunit mRNAs in monkey brain by in situ hybridization. J Comp Neurol 2000;425: 58–69
- 126-** Mineur YS, Picciotto MR. Genetics of nicotinic acetylcholine receptors: relevance to nicotine addiction. Biochem Pharmacol 2008;75:323–33.
- 127-**Quik M, O’Neill M, Perez XA, Nicotine neuroprotection against nigrostriatal damage: importance of the animal model. TRENDS in Pharmacological Sciences 2007;28 -5:229-235
- 128-** Dajas-Bailador F, Wonnacott S. Nicotinic acetylcholine receptors and the regulation of neuronal signalling. Trends Pharmacol Sci 2004;25:317–24
- 129-** Wonnacott S, Kaiser S, Mogg A, Soliakov L, Jones IW. Presynaptic nicotinic receptors modulating dopamine release in the rat striatum. Eur J Pharmacol 2000;393:51–58
- 130-**Nestler EJ. Is there a common molecular pathway for addiction? Nat Neurosci 2005;8:1445–9
- 131-**Brody AL. Functional brain imaging of tobacco use and dependence. J Psychiatr Res 2006;40:404–18

- 132-**Vaughan CJ, Delanty N, Harrington H, Murphy MB Treatment of spastic dystonia with transdermal nicotine. *Lancet* 1997 Aug 23;350 (9077):565
- 133-**Jones GM, Sahakian BJ, Levy R, Warburton DM, Gray JA. Effects of acute subcutaneous nicotine on attention, information processing and short-term memory in Alzheimer's disease. *Psychopharmacology (Berl)* 1992;**108**:485–494
- 134-**Newhouse PA, Potter A, Singh A. Effects of nicotinic stimulation on cognitive performance. *Curr Opin Pharmacol* 2004;**4**:36–46
- 135-**Dogu O, Crawley A, Werner K, Gwinn-Hardy K, Lopez G. A subject with a homozygous exon 4 parkin deletion whose parkinsonism dramatically improves following smoking. *Mov Disord* 2004;**19**(Suppl. 9):359
- 136-**Villafane G, Cesaro P, Rialland A, Baloul S, Azimi S, Bourdet C, et al. Chronic high dose transdermal nicotine in Parkinson's disease: an open trial. *Eur J Neurol* 2007;**14**:1313–6
- 137-**Hanagasi HA, Lees A, Johnson JO, Singleton A, Emre M. Smoking responsive juvenile-onset parkinsonism, *Movement Disorders*, 2007;**22-1**:115-118
- 138-**Tzourio C, et al. Smoking and Parkinson's disease. An age dependent risk effect? The Europarkinson Study Group. *Neurology* 1997;**49**:1267–1272
- 139-**Tanner CM, et al. Smoking and Parkinson's disease in twins. *Neurology* 2002; **58**: 581–588
- 140-**Pidoplichko VI, DeBiasi M, Williams JT & Dani JA, Nicotine activates and desensitizes midbrain dopamine neurons. *Nature* 1997;**390**: 401–404
- 141-**Maggio R, Riva M, Vaglini F, Fornai F, Molteni R, Armogida M, Racagni G, & Corsini GU, Nicotine prevents experimental parkinsonism in rodents and induces striatal increase of neurotrophic factors. *J Neurochem* 1998; **71**: 2439–2446
- 142-**Quirk M, et al. Differential declines in striatal nicotinic receptor subtype function after nigrostriatal damage in mice. *Mol Pharmacol* 2003;**63**: 1169–1179
- 143-** Clemens P, Baron JA, Coffey D, Reeves A. The short-term effect of nicotine chewing gum in patients with Parkinson's disease. *Psychopharmacology (Berl)* 1995;117:253–6
- 144-**Ebersbach G, Stock M, Muller J, Wenning G, Wissel J, Poewe W, Worsening of motor performance in patients with Parkinson's disease following transdermal nicotine administration. *Mov Disord* 1999;**14**:1011–3
- 145-**Vieregge A, Sieberer M, Jacobs H, Hagenah JM, Vieregge P. Transdermal nicotine in PD: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Neurology* 2001;**57**:1032–5

- 146-** Lemay S, Chouinard S, Blanchet P, Masson H, Soland V, Beuter A, et al. Lack of efficacy of a nicotine transdermal treatment on motor and cognitive deficits in Parkinson's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004;**28**: 31–9
- 147-**Ungerstendt U. 6-OHDA induced degeneration of central monoamin neurons.*Eur J Pharmacol* 1968;**5**:107-110
- 148-**Fabio Blandini, Marie-Therese Armentero, Emilia Martignoni.The 6-hydroxydopamine model: News from the past. *Parkinsonism and Related Disorders* 2008;**14**:124-129
- 149-**Lee CS, Sauer H, Bjorklund A. Dopaminergic neuronal degeneration and motor impairments following axon terminal lesion by intrastriatal 6-hydroxydopamine in the rat.*Neuroscience* 1996;**72**:641-53
- 150-**Przedborski S, Levivier M, Jiang H, et al : Dose -dependent lesions of the dopaminergic nigrostriatal pathway induced by intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine. *Neuroscience* 1995: **67**: 631-647
- 151-**Reavill C, Jenner P, Marsden CD: Differentiation of dopamine agonists using drug-induced rotation in rats with unilateral or bilateral 6-hydroxydopamine destruction of ascending dopamine pathways. *Biochem Pharmacol* 1983;**32**:865-870
- 152-** Lindner MD, Cain CK, Plone MA, Frydel BR, Blaney TJ, Emerich DF, Hoane MR, Incomplete nigrostriatal dopaminergic cell loss and partial reductions in striatal dopamine produce akinesia, rigidity, tremor and cognitive deficits in middle-aged rats. *Behav Brain Res* 1999; **102**:1–16.
- 153-**Rodrigues RW, Gomide VC, Chadi G. Astroglial and microglial reaction after a partial nigrostriatal degeneration induced by the striatal injection of different doses of 6-hydroxydopamine. *Int J Neurosci* 2001;**109**:91-126
- 154-**Papa SM, Engber TM, Kask AM, Chase TN; Motor fluctuations in levodopa treated parkinsonian rats: Relation to lesion extent and treatment duration. *Brain Res* 1994;**662**:69-74
- 155-**Cenci MA,Whishaw IQ, Schallert T: Animal models of neurological deficits; How relevant is the rats? *Nat Rev Neurosci* 2002 ;**3**:574-579
- 156-**Monville C, Torres EM, Dunnett SB: Validation of the l-dopa-induced dyskinesia in the 6-OHDA models and evaluation of the effects of selective dopamine receptor agonists and antagonists. *Brain Res Bull* 2005; **68**: 16-23
- 157-**Dadmarz M, Vogel W.H. Individual self-administration of nicotine by rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 76 (2003) 425–432

- 158-**Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates, 5th ed, p 205. San Diego: Academic Press 2005
- 159-**Alderson HL, Latimer MP, Winn P. A functional dissociation of the anterior and posterior pedunculopontine tegmental nucleus: excitotoxic lesions have differential effects on locomotion and the response to nicotine. *Brain Struct Funct* 2008;**213**:247–253
- 160-** Uzbay IT, Erden BF, Tapanyığıt EE, Kayaalp SO, Nitric oxide synthase inhibition attenuates signs of ethanol withdrawal in rats. *Life Sci* 1997;61: 2197-2209
- 161-** Conde C, Costa V, Tomaz C. Effects of emotional reactivity on inhibitory avoidance in the elevated T-maze. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2000, **33**:233-236
- 162-** Uzbay IT, *Psikofarmakolojinin Temelleri ve Deneysel Araştırma Teknikleri, Anksiyete Modelleri*, 2004 : sy 130
- 163-** Uzbay IT, *Psikofarmakolojinin Temelleri ve Deneysel Araştırma Teknikleri, Depresyon Modelleri*, 2004 : sy 135
- 164-** Uzbay IT, *Psikofarmakolojinin Temelleri ve Deneysel Araştırma Teknikleri, Depresyon Modelleri*, 2004 : sy 136
- 165-**Willner P, Animal models of depression: an overview. *Pharmacol Ther* 45:425-455, 1990
- 166-**Abel EL. Ontogeny of immobility and response to alarm substance in the forced swim test. *Physiol Behav* 1993 Oct;54(4):713-6.
- 167-** Detke MJ, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl)*. 1995 Sep;121(1):66-72.
- 168-** *Immunohistochemical Staining Methods*. Fourth Edition, Editor Marc Key, Ph.D. Key Biomedical Services , Ojai, CA, USA. Copyright 2006, Dako, Carpinteria, California. Chapter 4, Fixation and Processing., 28-32. Chapter 6, Antigen Retrieval 41-42. Chapter 7, Immunohistochemistry Staining Methods 47-49, Chapter 10, Ancillary Methods in Immunohistochemistry 74-79, Chapter 16, Background, 119-123
- 169-**Lanshakov DA, Bulygina VV, Romanova IV, Dygalo NN, (Morphology and pathomorphology) Immunohistochemical Analysis of Active Caspase-3 Expression in Structures of Neonatal Brain *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2009 Vol. 147 No. 5
- 170-** Blusztajn J K, Choline, a vital amine. *Science* 1998; 7(281): 794-795
- 171-**White AM, Matthews DB ve Best P. J. Ethanol, memory, and hippocampal function: A review of recent findings. *Hipocampus* 2000; 10:88-93

- 172-**Marti MJ, James CJ, Oo T F, Kelly W J, & Burke R E, *J. Neurosci* 1997; 17, 2030–2039
- 173-**Walkinshaw G, & Waters C M, *Neuroscience* 1994;63, 975–987
- 174-**Andrew P. Lieberman and Constance D’Amato. Neural inflammation, Alzheimer’s disease and stroke. *Fundamentals of inflammation*. Cambridge, Chapter 21. syf 259.
- 175-**Shahi GS, Moochhala SM Smoking and Parkinson's disease-a new perspective. *Rev Environ Health*. 1991;9(3):123-36.
- 176-**Menza MA, Golbe LI, Cody RA, Forman NE. Dopamine-related personality traits in Parkinson's disease. *Neurology* 1993; 43(3 Pt 1):505-8.
- 177-**Lanca JA, Sanelli TR, Corrigan WA, Nicotine-induced fos expression in the pedunculopontine mesencephalic tegmentum in the rat. *Neuropharmacology* 2000;39, 2808–2817
- 178-**Cousins MS, Roberts DC, de Wit H, GABA(B) receptor agonists for the treatment of drug addiction: a review of recent findings. *Drug and Alcohol Dependence* 2002; 65, 209–220
- 179-**Dani JA, De Biasi M. Cellular mechanisms of nicotine addiction. *Pharmacol Biochem Behav* 2001;70:439–46
- 180-**Picciotto MR, Zoli M, Rimondini R, Lena C, Marubio LM, Pich EM, Fuxe K, Changeux JP: Acetylcholine receptors containing the beta2 subunit are involved in the reinforcing properties of nicotine. *Nature* 1998;391:173–177
- 181-**Pidoplichko VI, DeBiasi M, Williams JT, Dani JA: Nicotine activates and desensitizes midbrain dopamine neurons. *Nature* 1997;390:401–404
- 182-** Janhunen S, Ahtee L. Differential nicotinic regulation of the nigrostriatal and mesolimbic dopaminergic pathways: implications for drug development. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(3):287-314
- 183-** Bordia T, Campos C, Quik M. Chronic but not acute nAChR stimulation reduces L-dopa-induced dyskinesias in parkinsonian rats. *Society for Neuroscience Abstracts* 2009
- 184-**Livingstone PD, Wonnacott S, Nicotinic acetylcholine receptors and the ascending dopamine pathways. *Biochem Pharmacol* 2009; 78, 744–755
- 185-**King SL, Caldarone BJ, Picciotto MR, Beta2-subunit-containing nicotinic acetylcholine receptors are critical for dopamine-dependent locomotor activation following repeated nicotine administration. *Neuropharmacology* 2004; 47 (Suppl 1), 132–139
- 186-** Ferrerri MA, Blanco R, Dalfo E, Carmona M. Neuropathology of sporadic Parkinson disease before the appearance of parkinsonism: preclinical Parkinson Disease. *J Neural Transm*. 2010

- 187-**Chapman MA, Does smoking reduce the risk of Parkinson's disease through stimulation of the ubiquitin-proteasome system? *Med Hypotheses* 2009; 73 (6): 887-91
- 188-**Copeland RL, Das JR, Kanaan YM, Taylor RE, Tizabi Y. Antiapoptotic effects of nicotine in its protection against salivary-induced cytotoxicity. *Neurotox Res* 2007; 12(1): 61-9
- 189-** Park HJ, Lee PH, Ahn YW, Choi YJ, Lee G, Lee DY, et al. Neuroprotective effect of nicotine on dopaminergic neurons by anti-inflammatory action. *Eur J Neurosci.* 2007;26(1):79-89
- 190-** Gallagher DA, Lee AJ, Schrag A. What are the most important nonmotor symptoms in patients with Parkinson's disease and are we missing them? *Mov Disord* 2010 25(15): 2493-500
- 191-**Menza MA, Robertson-Hoffman DE, Bonapace AS. Parkinson's disease and anxiety: comorbidity with depression *Biol Psychiatry* 1993 Oct 1;34(7):465-70
- 192-**Menza MA, Mark MH. . Parkinson's disease and depression: the relationship to disability and personality. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 1994 Spring;6(2):165-9
- 193-**Brook D.J. Clinical and (F) dopa PET findings in early Parkinson's Disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1995;59; 597-600
- 194-**Salin-Pascual RJ, Rosas M, Jimenez-Genchi A, Rivera-Meza B, Delgado-Parra V, 1996. Antidepressant effect of transdermal nicotine patches in nonsmoking patients with major depression. *J Clin Psychiatry* 57, 387–389
- 195-**Markou A, Kosten TR, Koob GF, Neurobiological similarities in depression and drug dependence: a self-medication hypothesis. *Neuropsychopharmacology* 1998; 18; 135–174
- 196-**Glassman AH. Cigarette smoking: implications for psychiatric illness. *Am J Psychiatry* 1993;150:546–53
- 197-**Hsu HR, Chen TY, Chan MH, Chen HH, Acute effects of nicotine on restraint stress-induced anxiety-like behavior, c-Fos expression, and corticosterone release in mice *European Journal of Pharmacology* 2007: 566 ; 124–13
- 198-**Corrigall WA, Franklin KB, Coen KM, and Clarke PB, The mesolimbic dopaminergic system is implicated in the reinforcing effects of nicotine, *Psychopharmacology* **107** (1992), pp. 285–289
- 199-**Graeff FG, Guimaraes FS, De Andrade TG, Deakin JF. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacol Biochem Behav* 1996;54:129–141
- 200-**Piazza PV, Rouge-Pont F, Deminiere JM, Kharoubi M, Le Moal M, Simon H. Dopaminergic activity is reduced in the prefrontal cortex and increased in the nucleus

accumbens of rats predisposed to develop amphetamine self-administration. *Brain Res* 1991;567:169-74.

201-Dellu F, Piazza PV, Mayo W, Le Moal M, Simon H. Noveltyseeking in rats: biobehavioral characteristics and possible relationship with the sensation-seeking trait in man. *Neuropsychobiology* 1996;4:136-45

202-Gäddnäs H, Pietilä K, Alila-Johansson A, Ahtee L, Pineal melatonin and brain transmitter monoamines in CBA mice during chronic oral nicotine administration. *Brain Res* 2002 Dec 6;957(1):76-83

203-Wolters EC, Francot C, Bergmans P, Winogrodzka A, Booij J, Berendse HW, Stoof JC Preclinical (premotor) Parkinson's disease. *J Neurol* 2000; 247; II103-II109

204-Wolters EC. Variability in the clinical expression of Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2008; 266; 197-203