

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SINIR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

PARKINSON HASTALIĞI OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
SUBTALAMİK NÜKLEUS LEZYONU SONRASI BEYİN
METABOLİK AKTİVİTESİNDE OLUŞAN DEĞİŞİMLER

UZMANLIK TEZİ
Dr.Arif Topal

SAMSUN 2008

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SINIR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

PARKINSON HASTALIĞI OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
SUBTALAMİK NÜKLEUS LEZYONU SONRASI BEYİN
METABOLİK AKTİVİTESİNDE OLUŞAN DEĞİŞİKLİKLER

UZMANLIK TEZİ

Dr. ARFİD TOPAL

TEZ DANIŞMANI

Yardımcı Doç. Dr. AHMET HİLMİ KAYA

SAMSUN 2008

TE EKKÜR

Uzmanlık e itimim süresince, yeti memde katkıları olan de erli hocalarıma, birlikte çalı maktan mutluluk duydu um asistan arkadaş larıma, çalı ma boyunca teknik olarak danı tı ımız, tecrübelerinden faydalandı ımız ve bize yol gösteren Yasin Temel ve asistanı Rinske Vlamings' e, çalı mam sırasında kullandı ım araçları temin etmemi sa layan ve bu araçların kullanımını gösteren saygıde er hocalarımız Bedri Kandemir, Cafer Marangoz, Süleyman Kaplan, Mustafa Ayyıldız' a, sabır ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme çok te ekkür ederim.

Ç NDEK LER

	<u>Sayfa No</u>
TABLO L STES	III
EK L L STES	IV
ÖZET	VIII
ABSTRACT	X
G R VE AMAÇ	1
GENEL B LG LER	4
MATERYAL VE METOD	16
BULGULAR	41
TARTI MA	47
SONUÇLAR	53
KAYNAKLAR	54

TABLO L STES

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Sıçan beyninin anatomik bölgeleri	25
Tablo 2: Histolojik incelemeler için kullanılan nissl boyama yöntemi	30
Tablo 3: Stereolojik sayım i leminin gerçekleştirildi i stereolojik analiz sisteminde kullanılan aletler	32
Tablo 4: Sitokrom oksidaz boyamasında inkübasyon için kullanılan solüsyon içerikleri ve oranları	35
Tablo 5: Sitokrom oksidaz boyamasında fiksasyon a aması için kullanılan solüsyon (NBF: neutral buffered formaldehyde) içerikleri ve oranları	36
Tablo 6: Sitokrom oksidaz boyamasında dehidratasyon a aması için kullanılan solüsyon içerikleri ve oranları	37
Tablo 7: Sitokrom oksidaz boyama sonrası doku kesitlerinden foto raflanan bölgeler	39

EK L L STES

	<u>Sayfa No</u>
ekil 1 : Motor impulsun bazal ganglionlarda düzenlenmesini gösteren kaskad.	6
ekil 2 : Sıçan sterotaksi aleti	18
ekil 3 : Sıçanın ba ının sterotaksi aleti ile tesbit edilmesi ve farklı açılardan görünümü	18
ekil 4: Cerrahi öncesi insizyon sahasının antiseptik amaçlı boyama i lemi.	19
ekil 5 : a ; 15 nolu bistüri ile cilt nsizyonu, b : retrakte edilmi cilt görünümü.	19
ekil 6: nsizyon sonrası ve retrakte edilmi galea.	20
ekil 7 : Bregma referans noktası alınarak paryetal kemi e burrhole açılmasının yakından görünümü.	20
ekil 8 : a, b : Bregma referans noktası alınarak paryetal kemi e burrhole açılması 8 c : tek taraflı ;8 d : iki taraflı burrhole görünümü	21
ekil 9 : 5 ve 10 mikrolitrelik hamilton i neleri ve ilaçlar	21
ekil 10 : a, b, c :bregma noktasına göre koordinat hesaplama 10 d –e :Her iki burrholeden lateral ventrikül içine ve lezyon yapmak için hedeflenen koordinatlara hamilton i nesıyla 6 – OHDA ve kainik asit enjeksiyonu	22
ekil 11 : Cerrahi i lem sonrası cildin sütüre edilmesi.	23
	<u>Sayfa No</u>
ekil 12 : Perfüzyon i lemi sonrası sıçan beyninin çıkartılması	24

ekil 13 : Sıçanların perfüzyon i lemi sonrası beyinlerinin çıkartılması ve perfüze edilmi sıçanlar.	24
ekil 14 : a – b :Sıçan beyinlerinin alttan ve üstten görünümü c – d : Sıçan beyinlerinin sukroz ve formaldehitli solüsyon içerisinde fikse edilmesi.	25
ekil 15 : Leica marka mikrotom cihazı, doku kesitlerinin alınması	26
ekil 16 : Sıçan beyninin anatomik bölgeleri.	26
ekil 17 : Korteksten sol lateral ventriküle uzanan (6 – OHDA enjeksiyonu sonrası) hamilton i ne trasesi.	27
ekil 18 : Subtalamik nükleusa kainik asit enjeksiyonu sonrası hamilton i ne trasesi.	27
ekil 19 : Mounting i lemi ve lam üzerine yayılmış doku kesitleri.	29
ekil 20 : Resim fırçasıyla doku kesitlerinin lam üzerine yayılması.	29
ekil 21 : a – c, Nissl boyama i lemi ve solusyon dolu kaplar b , pH metre cihazı.	31
ekil 22 : A : Stereoloji cihazı , B : Substantia nigra pars retikulata ve kompactanın görünümü , C : Substantia nigra pars kompakta sınırlarının gösterilmesi , D : Substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöronların tesbiti ve sayım i lemi.	33
ekil 23 : a : Sitokrom oksidaz boyamasında kullanılan ilaçlar b : Boyanmış preparatların etüvde bekletilmesi	35

Sayfa No

- ekil 24 : Sitokrom oksidaz boyamasında foto raflama için kullanılan bilgisayar destekli mikroskop düzene i 38
- ekil 25 : Sham, 6 – OHDA ve lezyon gruplarında sırasıyla motor korteks metabolik aktivitelerinin kar ıla tırılması. 43
- ekil 26 : Sham, 6 – OHDA ve lezyon gruplarında sırasıyla subtalamik nukleusun metabolik aktivitelerinin kar ıla tırılması. 43
- ekil 27 : Sham, 6 – OHDA ve lezyon gruplarında sırasıyla substantia nigra pars retikulatalarının metabolik aktivitelerinin kar ıla tırılması 43
- ekil 28 : Sham, 6 – OHDA ve lezyon gruplarında sırasıyla entopedünküler nükleusun metabolik aktivitelerinin kar ıla tırılması. 44
- ekil 29 : Sitokrom oksidaz boyama sonrası metabolik aktivite artı - azalı oranlarının SHAM ve 6 - OHDA grubunda grafiksel kar ıla tırılması 44
- ekil 30: Sitokrom oksidaz boyama sonrası metabolik aktivite artı - azalı oranlarının STN ve 6 - OHDA grubunda grafiksel kar ıla tırılması. 44
- ekil 31: Substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöron kaybının nissl boyama yöntemi ile gösterilmesi. 45
- ekil 32 : Kainik asit enjeksiyonuna ba lı subtalamik nukleusta nöronal hücre kaybının nissl boyama yöntemi ile gösterilmesi. 46

Sayfa No

ekil 33: Nissl boyama sonrası dopaminerjik nöron
kaybının grafiksel kar ıla tırılması

46

ÖZET

Amaç: Parkinson Hastalığı'nda en temel patoloji, nigrostriatal dopaminerjik sistemin dejenerasyonu ve bazal ganglionlarda dopaminin azalmasıdır. Bu patolojinin tedavisi halen semptomatik olup, globus pallidus interna, subtalamik nükleus, talamus gibi hedeflerin lezyon veya stimülasyonu ile bulguların düzelmesi klinik olarak gözlenmiştir. Subtalamik nükleusa yapılan cerrahi müdahaleler Parkinson hastalarında motor bulguların düzelmesini sağlamakta ancak mekanizması tam bilinmemektedir.

Bu çalışmada deneysel Parkinson modelinde bazal ganglion ve kortikal metabolik aktivitenin nasıl etkilendiği ve subtalamik nükleotominin bu metabolik aktiviteyi ne yönde etkilediği araştırıldı.

Materyal ve metod: SHAM, Parkinson ve Parkinson ile lezyon (iki taraflı subtalamik nükleotomi) olmak üzere 3 sıçan grubu oluşturuldu. Nigral hücre kaybı, 6-Hidroksidopaminin ventrikül içine stereotaktik enjeksiyonu, lezyon ise kainik asitin stereotaktik enjeksiyonu ile gerçekleştirildi. Ameliyattan bir ay sonra, sıçanlar perfüze edilip, beyinler -80 C°'de saklandı ve kryostat ile kesitler alındı. 6-Hidroksidopamin verilen deneklerde substantia nigra kompaktada %50'den fazla dopaminerjik hücre kaybı olduğu stereolojik analiz yöntemi ile gösterildi. Her üç grubunda subtalamik nükleus, entopedünküler nükleus, substantia nigra, talamus, frontal ve motor korteks kesitleri immunohistokimyasal olarak sitokrom oksidaz ile boyanıp, sitokrom oksidaz aktivitesi optik dansite değerlerine göre derecelendirildi ve değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Parkinson grubu ile SHAM grubu karşılaştırıldığında, subtalamik nükleus, entopedünküler nükleus, substantia nigra pars retikülata ve

motor kortekste sitokrom oksidaz aktivitesinin istatistik olarak anlamlı ekilde artımı oldu u görüldü. Parkinson grubu ile lezyon grubu kar ıla tırıldı ında ise substantia nigra pars retikülatada istatistiksel olarak belirgin sitokrom oksidaz aktivitesi artı ı ve motor kortekste aktivite azalması saptandı.

Sonuçlar: Bu çalı madaki bulgulara göre, subtalamik nükleotomi, substantia nigra pars retikülatanın Parkinson' da artımı olan metabolik aktivitesini daha da fazlala tırmakta, fakat motor kortekste artımı olan aktiviteyi ise azaltmaktadır.

Anahtar Sözcükler : Parkinson hastalı ı, Subtalamik nükleotomi, sitokrom oksidaz, metabolik aktivite, substantia nigra pars kompakta, substantia nigra pars retikulata

ABSTRACT

Objektive: Nigrostriatal dopaminergic system degeneration and decreased level of dopamine at the basal ganglia are the key pathological features in Parkinson's disease. Treatment modalities in this pathology have still remained symptomatic, and surgical attempts such as lesioning or stimulation of some targets namely the globus pallidus interna, subthalamic nucleus and the thalamus have been proven clinically. Subthalamic nucleus as a surgical target offers improvement in motor function of the patients with Parkinson's disease, but its mechanism is mostly uncovered.

Basal ganglia and cortical metabolic activity changes in Parkinson's disease and the effect of the subthalamic nucleotomy on these metabolic activity changes were aimed to be studied on an experimental Parkinsonian model.

Materials and Methods : Three groups of rat that are SHAM, Parkinson and Parkinson with bilateral lesions (bilateral subthalamic nucleotomy) were included in the study. Nigral cell loss was achieved with intraventricular stereotactic injection of 6 -Hydroxydopamine, and the subthalamic nucleotomy was achieved with stereotactic injection of kainic acid. After one month of the operation, the subjects were perfused, the brains were stored at - 80 C° and sectioned with cryostat. More than 50 % loss of dopaminergic neurons at the substantia nigra compacta in the subjects treated with intraventricular 6 – Hydroxydopamine was verified with stereological cell counting. Sections corresponding to subthalamic nucleus, entopeduncular nucleus, substantia nigra, thalamus, frontal and motor cortex of three groups

were immunohistochemically stained with cytochrome oxidase, and the cytochrome oxidase activity were measured in optical density and measures were compared statistically.

Results : In Parkinson group, when compared to SHAM group, statistically significant increase in the cytochrome oxidase activity was encountered in subthalamic nucleus, entopeduncular nucleus, substantia nigra pars reticulata and the motor cortex. In lesion group, when compared to Parkinson group, statistically significant increase in cytochrome oxidase activity in substantia nigra pars reticulata, but significant decrease of cytochrome oxidase activity in motor cortex were encountered.

Conclusion : According to findings of this study, in Parkinson, subthalamic nucleotomy aggravates the increased metabolic activity of substantia nigra pars reticulata, but lessens the increased metabolic activity of the motor cortex.

Key Words : Parkinson's disease, subthalamic nucleotomy, cytochrome oxidase, metabolic activity, substantia nigra pars compacta, substantia nigra pars reticulata

1. G R VE AMAÇ

Parkinson hastalığı (PH), bazal ganglionlardan, başta substantia nigra olmak üzere, diğer beyin sapı pigmentli nöronlarını da etkileyen dejeneratif bir süreçtir. Başlıca klinik belirtileri istirahat tremoru, bradikinezi, rijidite ve postüral refleks bozukluğudur. Parkinson hastalığı beyinde özellikle bazal ganglionlarda dopaminerjik nöronların yıkımı ile giden ilerleyici, hastalarda mental ve motor yıkıma yol açan, son aşamada da ölüme kadar götüren bir hastalıktır. Bu hastalığın tedavisinde dopamin preparatları yanı sıra son zamanlarda beyin belli bölgelerinin destrüksiyonu veya stimülasyonu ekinde cerrahi uygulamalar da yapılmakta ve bunların sayısı giderek artmaktadır. Bu araştırmaların amacı cerrahi işlemler sırasında bazal ganglionlarda ve beyin ilgili bölümlerinde ortaya çıkan metabolik değişiklikleri belirlemek ve bu sonuçlarla cerrahi tedavi metodlarından biri olan subtaalamik nükleotominin bu metabolik aktivite değişikliklerini nasıl etkilediği hakkında fikir sahibi olmaktır. Proje benzer çalışmalarda ortaya çıkan bulgulara yenilerini eklemek amacıyla gerçekleştirildi. Beynin işlevi mekanizmalarında önemli olan pek çok nörotransmitter ve bunların fizyolojik ve metabolik etkileri bilinmektedir. Bu kimyasalların patolojik süreçlerdeki yeri ve tedavideki önemi her geçen gün daha çok tartışılan ve araştırılan bir konu olup, özellikle hastalıkların tedavisinde yeni olanakların ortaya çıkmasına yardımcı olmaktadır. Parkinson hastalığında nigrostriatal dopaminerjik yolların ve nöronların aktivitesindeki azalma uzun süredir bilinen bir patofizyolojik mekanizmadır. Bu mekanizmada ortaya çıkan bozukluk nigrostriatal yapıların başlıca olduğu bazal ganglionlar, kortikal yapılar ve subkortikal olgularda da kalıcı değişikliklere yol açmaktadır.

Günümüzde kullanılan tıbbi veya cerrahi tedavilerin pek ço u hastalı n farklı semptomları üzerine yo unla mı tır. Buna kar ın bütün bulgulara birden düzeltebilecek tek bir tedavi yöntemi henüz bilinmemektedir. Tedaviler süreci durdurmamakta ancak yava lamasına yardımcı olmaktadır. Bu kadar komplike bir mekanizmanın tekrar i lerli ine kavu turulabilmesi ancak mekanizmanın tüm boyutlarıyla anla ılmasıyla mümkün olabilir. İmdiye kadar bu amaçla pek çok çalı ma yapılmı olup bunlar beynin farklı yerlerindeki patolojik süreçleri ortaya çıkarmı tır. Bu çalı madaki amaç ise Parkinson hastalı ı olan sıçanlarda subtalamik nükleusa yapılacak lezyonun bazal ganglionlarda ve kortikal dokularda ne gibi metabolik de i ikliklere yol açtı nı gözlemlemektir. Sonuçlar özellikle cerrahi tedavinin etkinli i hakkında bize bilgi verebilir.

Bu amaçla yapılan ara tırma protokolünde, deney hayvanlarının (sıçan) sıçan sterotaksi cihazı yardımıyla ventrikül içine verilecek 6 - hidroksidopamin sayesinde Parkinson hastalı na yakalanması planlanmı tır. Bu yöntem literatürlerden de anla ı laca ı üzere geçerlili i kanıtlanmı ve güvenilir bir metottur. 6 - hidroksidopamin verilen grubun bir kısmında yine sıçan sterotaksi cihazı yardımıyla ve kainik asit ile subtalamik nükleusa lezyon yapıldı. Bu grup sadece Parkinson ' u olan sıçanlarla ve kontrol grubuyla kar ıla tırılmak üzere 1 ay ya atıldı daha sonra perfüze edildi. Substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöron kaybı nissl boyamasıyla ve bazal ganglionlardaki metabolik de i iklikler sitokrom oksidaz boyaması ile de erlendirildi. Bu çalı ma aynı lokalizasyonu ilgilendiren ve metabolik de i ikliklerle alakalı ilk çalı ma olması açısından da önem arz etmektedir.

6 – OHDA enjeksiyonu ile sıçanları Parkinson olu turma modeli literatürde öteden beri kullanılan en güvenilir yöntemlerden birisidir. Literatür daha

önceden, bu modelde sıçan beyinde ne gibi de i iklikler olmaktadır açıklamaya çalı mı tır. Bununla birlikte sitokrom oksidaz aktivitesinin histolojik incelemelerle ortaya konması beyin metabolik aktivitesi hakkında bilgi vermektedir. Literatüre baktı ımızda beyin sitokrom oksidaz aktivitesi her ne kadar Parkinson olu turulan sıçanlarda bakılmı olsa da lezyon olu turulduktan sonra aktivite konusunda çok doyurucu bilgi bulunmamaktadır. Bu çalı ma da Parkinsonlu sıçanlarda subtalamik lezyon sonrasında sitokrom oksidaz aktivitesinde bölgesel de i iklikler kayıt edilerek, rutin uygulanan cerrahinin ilave etkileri hakkında veriler elde edildi.

2- GENEL B LG LER

2.1- Giri

Parkinson hastalı ı ilk olarak James Parkinson tarafından 1817'de tariflenmi tir. James Parkinson orijinal tarifinde ba , kol veya bacakta hakim titreme bulgularından, zaman içerisinde bu bulguların artıp daha generalize hal aldı ndan ve hastanın el becerisini kaybedip yürüme güçlü ü çekti inden bahsetmi tir. Hastalı ın seyrinde, vücudun kalıcı olarak e imli hale geldi inden, hastanın a zına aldı ı yiyece i yutamadı ndan, salyasını akıttı ndan ve entelektüel kapasitesinde dü me meydana geldi inden bahsetmi ve bu tabloyu "Shaking Palsy" olarak adlandırmı tır (1,2,3). Günümüzde ise halen bilinmeyen bir çok yönü olsa da, hastalı ın gerek klinik bulguları, gerek seyri, gerekse de patofizyolojisi birçok yönü ile anlaşılabilmir.

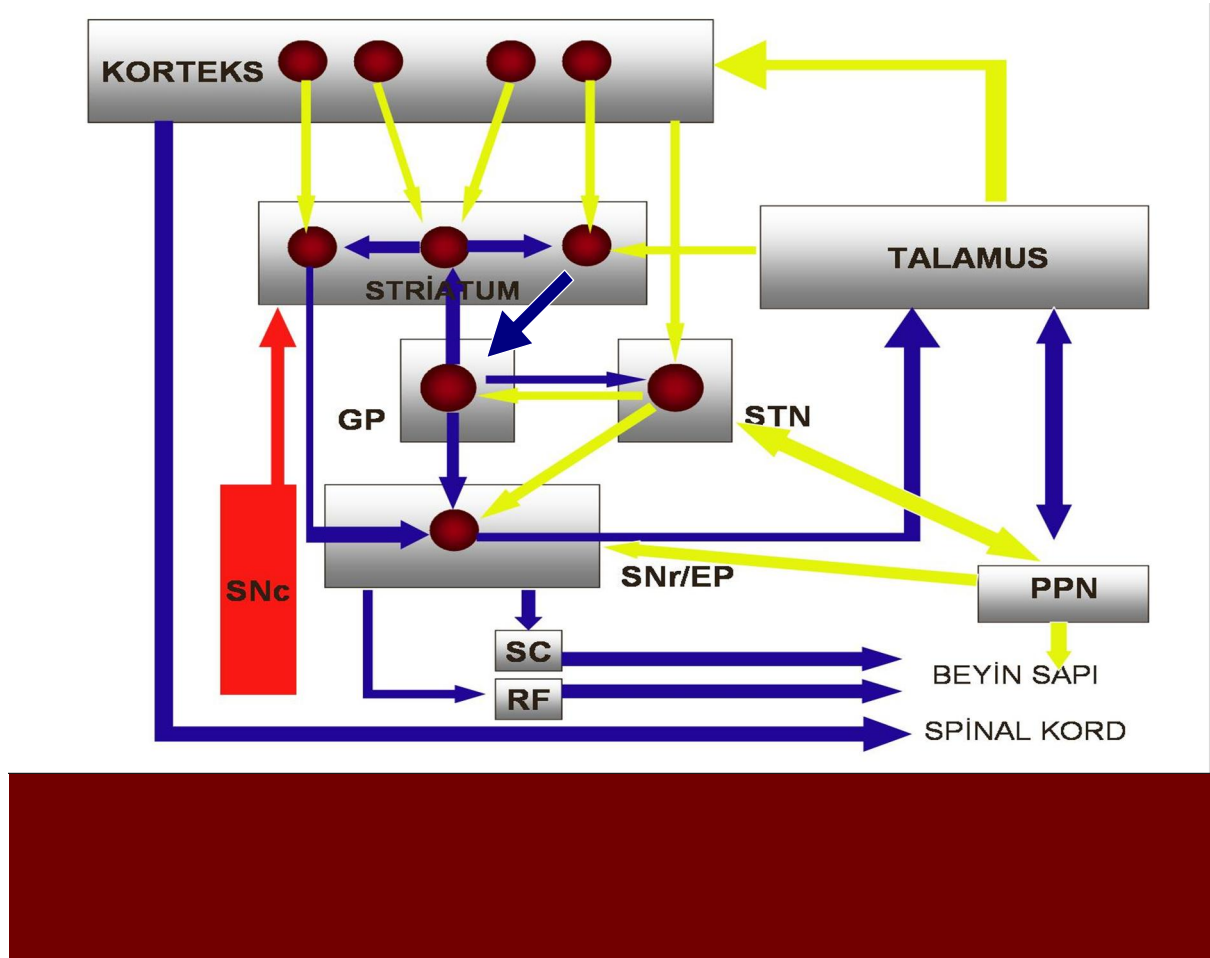
Parkinson hastalı ı santral sinir sisteminin (SSS) ilerleyici seyreden bir hastalı ıdır. Genellikle ileri ya grubu hastalarda rastlanmakla birlikte az sıklıkla genç hastalarda da rastlanabilmektedir. Kabaca atımlı ya larda görülme sıklı ı her 300 bireyde 1 iken yetmi li ya larda her 100 bireyden 1 tanesinde Parkinson mevcuttur (1,2,3).

2.2- Patofizyoloji

Bugüne kadar yapılan gerek klinik gerekse de deneysel çalı maların ortak bulguları, temel patolojinin bazal ganglionda oldu unu göstermektedir (4,5,6,7). Parkinson hastalı ında en önemli ve de i mez bulgu, nigrostriatal dopaminerjik yolun etkilenmi olmasıdır. Substantia nigra pars kompaktada yerle ik dopaminerjik nöronlar, striatum üzerinde sonlanır ve bu bölgeye dopamin salgırlar. Dopamin bazal ganglion üzerinde düzenleyici etkiye sahip bir nörotransmitterdir. te Parkinson hastalı ında de i mez bir bulgu olarak

substantia nigra pars kompaktada dopaminerjik nöronlarda % 50 ve üzerinde kayıp, bazal ganglion dopamin seviyesinde ise %70 üzerinde azalma mevcuttur (5,7,8). Diğer bir önemli bulgu olarak, Parkinson hastalığında bazal ganglion, korteksle bağlantılı olmak üzere nöronlarda intrasitoplazmik protein yapısında inklüzyon cisimleri bulunur ve bu inklüzyon cisimcikleri, alfa sinüklein ve parkin içeren Lewy cisimcikleridir. Kesin ve tamamlanmış olmamakla birlikte bugüne kadar bazal ganglionun fonksiyonu ile ilgili birtakım veriler elde edilmiştir. Bazal ganglion korteks ve talamus arasında asosiyatif, limbik, motor ve okulomotor paralel bağlantılar oluşturur ve motor bağlantılardaki bozukluk ise klinik olarak hareket bozukluğu anlamına gelir (7,9,10). Bazal ganglionun klasik olarak tariflenmiş motor fonksiyonuna göre, bazal ganglionda bulunan indirekt ve direkt motor yollar karışık çalışarak normal istemli hareketin oluşmasını sağlarlar (4-10). Kortikal bilginin bazal gangliona giriş yeri striatumdur (Kaudat nükleus ve putamen). Çıkış yeri ise globus pallidus interna (primatlarda entopedünküler nükleus) ve substantia nigra pars retikülatadır. Kısaca korteks motor hareket oluşumu için geçerli iletimi önce striatum seviyesinden bazal gangliona iletir, bazal ganglion içinde direkt ve indirekt yol etkileri ile iletişimi sağlayan bu akım sonuç olarak bazal ganglionun çıkış nükleusları (output nükleusları) olan globus pallidus interna ve substantia nigra pars retikulata aracılığı ile bazal gangliondan çıkar ve talamusun ventral bölgesine ulaşır. Talamusun ventral bölgesinden çıkan ileti subkortikal premotor bölgeler üzerinden tekrar kortekse iletilir. Dolayısıyla, bir şekilde hareket korteksten spinal motor yollara direkt olarak iletilmeden önce, bazal ganglion üzerinden süzülerek talamusa iletilip oradan tekrar kortekse alınır ve bu döngü istemli hareketin oluşmadan önce

bir ekilde bazal ganglion tarafından i leme tabi tutuldu u anlamına gelir
(1,2,4,5)



ekil 1 : Motor impulsun bazal ganglionlarda düzenlenmesini gösteren kaskad. Sarı oklar eksitator (glutamaterjik) , mavi oklar inhibitör (gabaerjik) ve kırmızı ok modulator (dopaminerjik) etkiyi göstermektedir.

Bazal ganglionda yer alan direkt yolda korteksten striatuma gelen ileti direkt olarak çıkı nükleuslarına (globus pallidus interna ve substantia nigra pars retikulata) gelir (5-9). ndirekt yolda ise striatuma ula an ileti globus pallidus eksterna ve subtalamik nükleus üzerinden çıkı nükleuslarına ula ır (7-11). Bu iletim yollarında eksitator ve inhibitör olmak üzere iki tip nörotransmitter kullanılır. Bazı iletimler inhibitör yol üzerinden olurken bazıları ise eksitator yol üzerindedir. nhibitör yol GABA'yı nörotransmitter olarak kullanırken, eksitator

yol glutamatı kullanır. Ayrıntılı olarak ekil 1 de ematize edilmi bazal ganglion i leyi ine bakıldı ında, direkt yolun aktivasyonu bazal ganglion çıkı çekirdeklerinin talamus üzerindeki inhibitör etkisinin azalmasına ve de dolayısı ile artmı motor korteks aktivitesi ve istemli hareketlerin kolayla masını sa lar. Tam tersine indirekt yolun aktivasyonu ise, bazal ganglion çıkı nükleuslarının talamus üzerindeki inhibitör etkisinin artmasına ve böylece motor korteks üzerinde inhibitör etki ile istemli hareketin süpresyonuna sebep olur. Normal artlarda nigrostriatal dopaminin direkt yolu uyarıp, indirekt yolu inhibe ederek göreve katıldı ı dönülmekte ve Parkinson hastalı ında meydana gelen dopamin eksikli i sonucunda indirekt yolun daha aktif hale geldi i dönülmektedir (7,11,12). ndirekt yolun aktivitesi, bazal ganglionun talamus ve dolayısı ile motor korteks için inhibitör etkiye sahip uyarısını arttırarak yava lamı harekete yani bradikineziye sebep olmaktadır.

Yukarıda bahsetti imiz bazal ganglionun klasik çalı ma yönteminde bazı açıklanamayan noktalar vardır. Sözgelimi talamatomi Parkinson hastalı ında talamokortikal yolları harapladı ı halde, neden semptomların ktle mesine de il de iyile mesine sebep olmaktadır. Ayrıca korteksten subtalamik nükleusa direkt uyarıcı yolda mevcuttur (4,7,11,15,17,18). Kabaca baktı ımız zaman, direkt yol hareketi kolayla tırırken indirekt yol hareketi duraklatmaktadır. Son teorilere göre, bu her iki yol birbirinden ba ımsız ve paralel akımlar gibi çalı maktadı, Parkinson hastalı ında ise dopamin yoklu u bu her iki yolun ara ba lantılarının devreye girerek senkronize çalı malarına ve bulguların geli mesine sebep olmaktadır (5-8,10-18).

2.3- Klinik bulgular

Parkinson hastalığının seyri belirgin farklar gösterip, çok sayıda semptom geli ebilmekle ve de semptom geli me hızları farklı olabilmekle birlikte, üç semptom Parkinson hastalığının temel semptomlarından olup, bu bahsedilen üç semptomun her bir tanesi sıklıkla erken dönemde kendisini göstermektedir. Bunlar; hipokinezi, bradikinezi, rijidite ve tremordur. Bu semptomlar ço unlukla tek taraflı ba larlar (19-26).

Hipokineziyi kabaca hareket azlığı, bradikineziyi ise harekette yavaşlama olarak tarif edebiliriz. Hipokinezi ayrıca yüz ifadesinde donukluk, yürürken kol hareketlerinde azlık, hassas el işi gerektiren işlerde beceri azlığına sebep olur. Rijidite, diğer adı ile kas sertliği, hipokinezi ve bradikinezi sebebi ile meydana gelen hareket sorunlarını daha da iddettirir. Bütün kas grupları etkilenebilir ve muayenede pasif harekete karşı belirgin bir kas direnci görülür. Spastisiteden farklı olarak pasif hareketin bütününde bu direnç mevcut olup, spastisitedeki gibi hareketin başlangıcından sonra ani bir kas gevşemesi görülmez.

Tremor belki Parkinson hastalığının en mehur klinik bulgusudur fakat ilginç olarak hastaların dörtte birinde gözlenmez. Tremor, istemsiz olarak belli kas grubunda, genellikle o kas grubunun istirahatinde oluşan ve aktivitesinde azalan, kaba bir tremor olup, 4 - 6 Hz frekanslıdır (21,24,25). Sıklıkla eller etkilenmekle birlikte, çene ve ayaklarda da görülür ve başparmak ve işaret parmağı birlikte mehur " makara sarma hareketi " tipinde tremor olu turabilir. Her ne kadar Parkinson tremoru istirahat tremoru olarak kabul edilse de hastaların bir kısmında esansiyel tremorda olduğu gibi aksiyon tremoru da görülebilir. Hastaların yaklaşık % 30' unda tremor ilk semptomdur (21-23,26).

Zamanla hastalarda fleksiyon postürü, postür ve hareket esnasında dengesizlik, buna bağlı olarak dümeler meydana gelir. Freezing dediğimiz hareket esnasında durup adeta donakalma veya hareketi bir türlü başlatamamaya bağlı olarak duraksama meydana gelebilir.

Yutma güçlüğü (Disfaji) hastaların yarısını etkiler. Dil hareketinde yavaşlama altında yatan sebep olup, beslenme bozukluğu veya aspirasyon pnömonisine sebep olabilir. Larinks kaslarında yavaşlama, ses patlamalarına ve konuşma bozukluğuna yol açar.

Depresyon Parkinson hastalığında, hastaların en az % 40'ını etkileyen önemli bulgulardan biri olup, yaşam kalitesini bozan en önemli etkenlerden bir tanesidir (19,20,26). Beraberinde uyku problemleri ve yorgunluğu getirir ve tremor ile bradikineziyi ağırlaştırır. Bu hastalarda antidepresif tedavi hem bu bulguları azaltır hem de mental yönden hastaya fayda sağlar. Hastalığın seyrinde çoğunlukla vizüel, daha az oranda da auditer halüsinasyonlar görülebilir ve bu halüsinasyonlar antikolinergik tedavi veya dopamin antagonistleri ile tedaviyle de ortaya çıkabileceği gibi, bu ilaçlar tarafından ağırlaştırılabilir.

Hastaların yaklaşık 1/5'inde, ileri hastalık evresinde ciddi kognitif bozukluk gözlenir (19,26). Kısa süreli hafızada bozulma, konfüzyon, karar verme ve sebep sonuç ilişkisini de erlendirmede bozukluk ve vizüel halüsinasyonlar demansif tablonun en önemli bulgularıdır. Azalmış koku duyusu da hastalığa eşlik edebilir.

Hastalarda el ile yazı yazarken küçük harflerle yazmaya eğilim olabilir. Bazen uzun cümle yazarken, harfler görülemeyecek kadar küçülüp, nokta halini

alır. Bu bulgu mikrografi olarak adlandırılır ve bazen hastalının erken bulgusu olabilir.

Detrussör kasının hiperaktivitesine bağlı olarak noktüri ve konstipasyon hastalının seyrinde önemli derecede sıkıntı veren bulgular haline gelebilir.

Tremor, yatakta dönmede güçlük, miyoklonik kasılmalar ve kramplar, Parkinson hastalarında ciddi uyku problemlerine yol açarlar. Bradikinezi, tremor ve depresyon cinsel problemleri beraberinde getirir.

2.4- Etiyoloji

Parkinson hastalısının etiyojisinde genetik (27-37) ve çevresel (38-43) faktörlerin rol oynadığına dair bilgiler mevcuttur. Özellikle, çiftçiler gibi tarım ilaçlarını yoğun kullanan veya bu ilaçlara maruz kalan kişilerde Parkinson hastalığı daha sık saptanmıştır. Yine kötüye kullanımı yaygın bir madde olan MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6- tetrahidropiridin) kimyasal yapı olarak böcek ilacı olan ve Parkinson hastalığına sebep olan parakuata çok benzer ve potansiyel bir şekilde hızlı gelişen Parkinson hastalığına sebep olmaktadır. Bununla birlikte, fazla miktarda vitamin E alımının da Parkinson hastalığına sebep olabileceği gibi üpheler mevcuttur. Dolayısıyla ile birtakım çevresel faktörlerin Parkinson hastalığına sebep vermesi ile ilgili olarak net bulgular mevcuttur.

Parkinson hastalığında birtakım genetik faktörlerin rol oynadığına ait bulgular da mevcuttur. Ailesinde Parkinson hastalığı olanlarda, hastalığına yakalanma riski % 5 oranında daha fazla bulunmuştur (27-29). Her ne kadar genetik sebepli Parkinson hastalığı hastaların sadece % 5 ' ini oluştursa da yapılan araştırmalarda Parkinson hastalığı ile ilgili birtakım genler suçlanmıştır. Bu genler kısaca alfa nüklein (PARK 1), parkin (PARK 2), ubikutin karboksiterminal hidrolaz-L1 (UCHL1), DJ-1 (Park 7) ve NR4A2 dir (28,30,31,32,34,36).

Sözelimi, bir talyan ailede alfa sinüklein geninde mutasyona ba lı otozomal dominant geçi li Parkinson hastalı ı tariflenmi , bir Japon ailede de parkin geni ile ili kili jüvenil tip Parkinson Hastalı ı tariflenmi tir. Ayrıca Parkinson Hastalı ı olan hastaların sinir hücerelerinde tespit edilen Lewy cisimciklerinin yo un miktarda alfa sinüklein içermesi de ilginçdir (27,29).

Postensefalitik Parkinson bulgularının epidemiler sonrasında sıkça görülmesi her ne kadar viral etkenleri de gündeme getirmi olsa da , u ana kadar ne postmortem çalı malar, ne de serolojik çalı malarda böyle bir etkene ait bulguya rastlanamamı tır (27,28).

2.5- Medikal tedavi

Henüz Parkinson hastalı ının progresyonunu engelleyen veya geciktiren bir ilaç tedavisi yoktur. Dolayısı ile tedavi, hastalı ın semptomlarına yönelik uygulanmaktadır (44-63).

Levodopa Parkinson hastalı ında kullanılan en önemli ilaç olup, dopamin prekürsörüdür. Periferik dopa dekarboksilaz inhibitörleri ile kombine edildi inde dopanın periferik yıkımında engellenmesi ve santral sinir sistemine etki edebilmesi sa lanmı olur. Levodopanin farklı salınım süresi bulunan farklı preparatları da tedavide kullanılmaktadır. Dopamin agonistlerinin özellikle D2 reseptörü üzerinden etki eden formları da tedavide kullanılmaktadır. Bromokriptin, kabergolin, lisurid, pergolid, pramipeksol, ropinirol ve apomorfin dopamin agonistlerinden bazılarıdır. Triheksfenidil, orfenadrin, prosiklidin Parkinson hastalı ında kullanılan antikolinergic ilaçlardır. Etki mekanizmaları sinir hücresi üzerinde uyarıcı etkiye ait asetilkolinin etkisini azaltarak, inhibitör etkiye sahip dopaminin azalması ile ortaya çıkan nörotransmitter dengesizli ini azaltmaktır. Selegilin, rasagilin gibi monoamin oksidaz B inhibitörleri ise

dopamin yıkımını azaltarak etki gösterirler. Katekol o metil transferaz (COMT) inhibitörleri de hem levodopa, hem de dopaminin metabolize olmasını azaltarak etki eden ilaçlardır ve entakapon, talkapon örnek ilaçlardır. Orijinal bir antiviral ajan olan amantadin de Parkinson hastalığı nda kullanılmaktadır ve etki mekanizmasınınin glutamat inhibisyonu yaparak oldu u dü ünülmektedir.

2.6- Cerrahi tedavi

Parkinson hastalığı nda maalesef cerrahi tedavide sadece semptomlara yönelik olup, hastalığı n progresyonunu önleyici bir etkiye sahip de ildir. Parkinson hastalığı nda fazla aktivite oldu una inanılan üç ayrı anatomik bölgenin cerrahi müdahale ile aktivitesini azaltmakla, hastalığı n bulgularında düzelme sa lanmaya çalı lımı ve bu giri imlerden anlamlı iyile meler sa lanmı tır (64-85) . Bu bölgeler sırası ile talamus, globus pallidus ve subtalamik nükleuslardır. Bu bölgelerden birinin inaktivasyonu için 2 farklı yöntem kullanılmı tır. Bunlardan bir tanesinde, o bölgeye ablasyon yapılarak aktivitesi ortadan kaldırılmı , di erinde ise yüksek frekansta elektrik uyarısı sa lanarak, yani o bölgeye depolarizasyon blo u yaparak aktivitesi durdurulmaktadır. İlk bahsedilen yöntemde, o bölgeye uzatılan bir prob ucundan elektrik akımı geçirilerek ısı etkisi ile doku hasarı meydana getirilir. Di erinde ise o bölgeye kalıcı bir kateter ucu yerle tirilip, bu kateterin di er ucu cilt altında bir pile ba lanarak, sürekli kateter ucuna yüksek frekansta elektrik uyarısı yapılır. Bu ikinci yönteme derin beyin stimülasyonu denir. Ablasyon yöntemi kalıcı lezyon yaparken, derin beyin stimülasyonunda bu hasar olmadı ı gibi, etki stimülasyon durduruldu u anda kalkar. Ayrıca pil di arıdan ayarlanabilir ve uyarı seviyesi arttırılıp azaltılarak tedavi daha etkin

düzenlenebilir. Fakat bunun yanında derin beyin stimülasyonu çok pahalı bir yöntem olup, pil ömrü ortalama 3 – 5 yıldır ve bu süre sonunda de i tirilmesi gerekir.

Talamotomide, yani talamusun ablasyonunda thalamusun ventrointermediat nukleusu (VM) stereotaktik olarak hedeflenir (64,66,70). Lezyon sonrası özellikle tremor dramatik olarak azalır ve hastaların büyük kısmında uzun süre bu etki devam eder. Talamotomi, rijidite, hipokinezi ve bradikineziye pek etki etmez. Lezyon tremorun belirgin oldu u tarafın kontralateraline yapılır ve bilateral talamotomi dizartri riskinin fazla olması nedeni ile pek tercih edilmez. Talamik stimülasyon da talamatomi ile aynı etkinli e sahiptir (64-67). Talamotomiye nazaran diskinezi üzerinede biraz etkinli i vardır (64-70,72).

Pallidotomide ise hedef posteroventral pallidum, yani globus pallidus internadır (81-85). Özellikle levodopaya ba lı diskinezi meydana gelen hastaların büyük kısmında iyile me sa lar. Rijidite, tremor ve bradikinezi üzerinde de daha az etkin olmakla birlikte yarar sa lar. Ayrıca diskinezi nedeni ile arttırılmayan dopa dozunun daha da arttırılması sa lanabilir. Çift taraflı uygulandı nda disfaji ve disfoni riski yüksektir. Pallidotomi sonrası görme alanı defekti ve hemiparezi riski mevcuttur. Pallidal stimülasyonun etkinli i, pallidotomi ile hemen hemen aynıdır.

Subtalamik nükleusun hedeflenmesi derin beyin stimülasyonu dönemine rastgeldi inden, klinik olarak ço unlukla stimülasyon lezyon yerine tercih edilmi tir (68,70-72,74-80). Subtalamotomi ise deneysel olarak yo un ekilde tecrübe edilmi tir. Subtalamik stimülasyon özellikle diskinezi ve off dönemlerinde görülen iddetli bulgularda oldukça etkin bulunmu ve bu etkiler uzun dönem devam etmekte gibi gözükmektedir. Özellikle bradikinezide belirgin

iyileme görülmektedir. Ayrıca bilateral olarak uygulanabilirliği bu bölgeyi cerrahi açıdan daha alımlı hale getirmektedir. Depresyon, demans ve diğer mental problemi olan hastalarda tercih edilmemektedir.

2.6- Deneysel Parkinson modeli

Deneysel Parkinson modeli, hastalığın patofizyolojisini hayvanlar üzerinde taklit ederek, hastalık sürecinde meydana gelen klinik ve histopatolojik değişiklikleri ayrıntılı tanıma ve farklı tedavi yöntemlerinin etkinliğini tespit etme amacı vermektedir. Deneysel Parkinson modeli oluşturmak için kullanılan yöntemler içinde nörotoksin uygulama, çevresel toksin uygulama ve genetik olarak değiştirilmiş hayvan kullanma (transgenik sıçan) yöntemleri mevcuttur (86-92). Kullanılan nörotoksinler içerisinde en popüler olanlar 6 – OHDA (6-hidroksidopamin) ve MPTP (1-metil-4-fenil-1236-tetrahidropiridin) dir. Çevresel toksinler ise rotenone, paraquat veya maneb uygulamasını içermektedir.

Sıçanlarda 6 - OHDA uygulaması ile deneysel Parkinson modeli oluşturma hali hazırda en çok kullanılan yöntemdir. 6 – OHDA aslında dopaminin hidroksillenmiş bir analogudur ve 6 - OHDA santral sinir sistemine uygulandığında nigrositriatal sistemde içeren katekolaminerjik nöronlarda dejenerasyona sebep olmaktadır (89,91-92). Dolayısıyla ile noradrenerjik ve dopaminerjik nöronlar üzerine toksik etkisi vardır. Santral sinir sistemine uygulanan 6 – OHDA dopamin ve noradrenerjik taşıyıcı moleküllerle hücre içine alınmakta, sitoplazmada birikmekte ve hücrenin ölümüne yol açmaktadır. Bu toksik etkiyi geliştirmesine ait farklı etkiler mevcuttur. 6 – OHDA hücre içine alınır alınmaz okside olarak parakuinon ve hidrojen perokside dönüştürülerek ve hidroksi radikallerin oluşması ile ilk toksik etkiyi oluşturur (89). Ayrıca, 6 - OHDA mitokondriyal kompleks I üzerinde de etkili olup süperoksit serbest

radikallerinin olu umuna da sebep olmakta hücre üzerinde oksidatif streslere de sebep olmaktadır (89,91,92).

6 – OHDA sistemik olarak uygulandı ında kan beyin bariyerini geçemez. Dolayısıyla nigrostriatal hasarı gerçekle tirebilmek için direkt olarak santral sinir sistemine uygulamak gerekir. Uygulama yolları intrasisternal, ventriküler veya direkt olarak striatum olarak tercih edilebilir. Striatum uygulaması özellikle tek taraflı Parkinson modeli olu turulacaksa tercih edilir. Santral sinir sisteminde noradrenerjik hücreleri koruyarak, selektif dopamin hücre hasarı olu turmak için 6 – OHDA ' nın noradrenerjik nöronlara alınması engellenebilir. Desimipramin, 6 - OHDA uygulamasından 30 dakika önce dene e uygulandı ında, verilen 6 – OHDA noradrenerjik nöronlar tarafından alınamamaktadır (89). Dolayısı ile desimipramin uygulanmı sıçanlarda santral sinir sistemine uygulanan 6 - OHDA selektif olarak dopaminerjik nöron hasarına yol açmaktadır. Etki uygulamadan sonra 12. saatte ba lamakta, 3. günde pik yapmaktadır (89). Kronik bir Parkinson modeli için uygulama üzerinden en az 3 hafta geçmesi uygun olup, nigral dopaminerjik hücrelerin % 50 oranında hücre kaybı, bazal ganglionda % 80 ' e varan dopamin eksikli ine yol açmaktadır (87,89).

3- MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Cerrahi Araştırma Merkezi laboratuvarında etik kurulun iznini takiben gerçekleştirildi. Çalışmada, ağırlıkları 300 – 400 gram arasında olan 24 adet erişkin erkek Sprague - Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar üç gruba ayrıldı, sham (kontrol) grubunda 8 adet, Parkinson hastalığı grubunda (6-Hidroksidopamin grubu) 8 adet, subtalemik nükleotomi grubunda 8 adet sıçan kullanıldı.

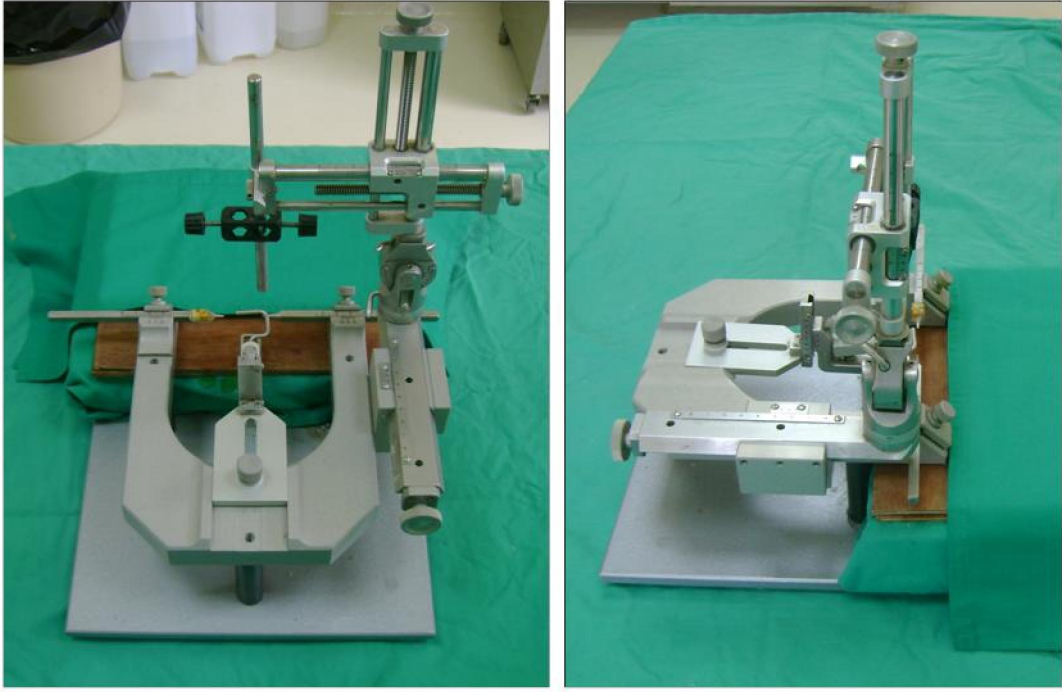
3.1- Cerrahi İşlem

Sham grubu oluşturmak için 100 ml % 0.9 salin içerisine 0.2 gr askorbik asit eklenerek % 0.2 lik askorbik asit çözeltisi hazırlandı. Parkinson hastalığı grubunu oluşturmak için kullanılan 6 – Hidroksidopamin solüsyonu; 100 ml % 0.9 luk salin içerisine 0.2 gr askorbik asit ve 25 mikrogram 6-Hidroksidopamin (sigma chemical Co.) eklenerek hazırlandı. Subtalemik nükleotomi grubunu oluşturmak amacıyla 2.5 mg kainik asit (sigma chemical Co.) 2.16 ml % 0.9 luk salin içerisine katılarak 0.5 nmol lük kainik asit solüsyonu hazırlandı.

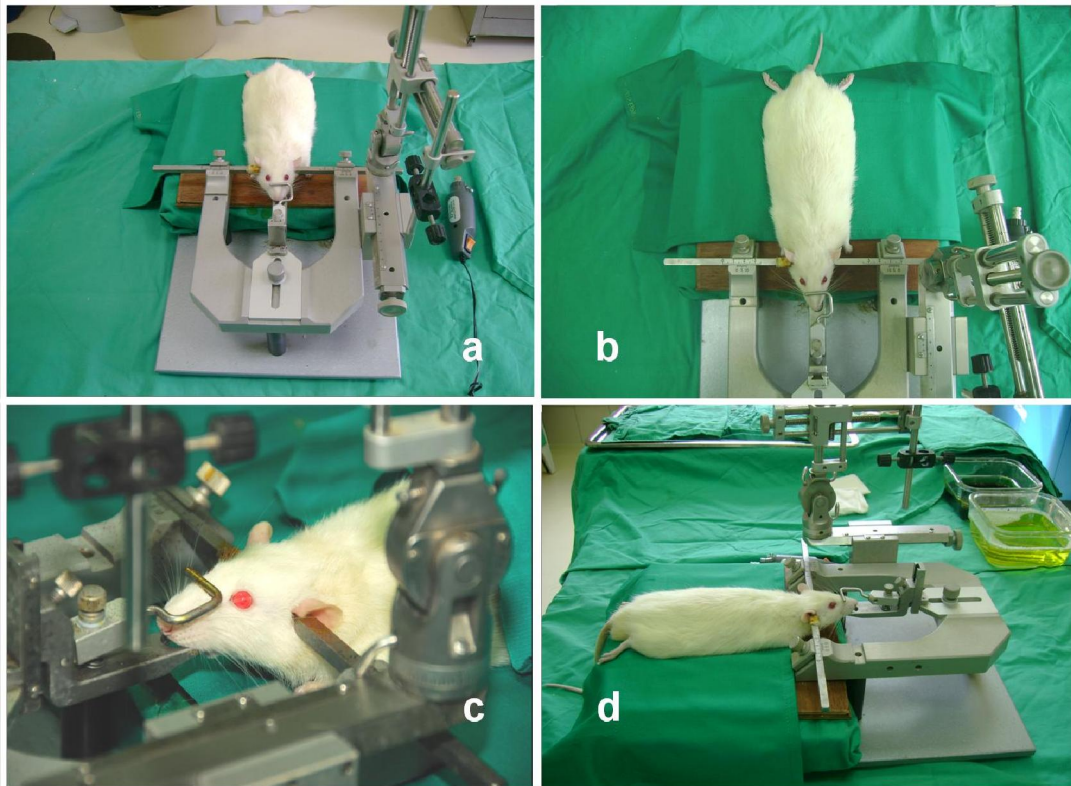
Operasyondan 1 saat önce, 6 - Hidroksidopaminin noradrenerjik nöronlar üzerine olan toksisitesini engellemek için, bütün sıçanlara intraperitoneal 20 mg/kg desimipramine (sigma chemical Co.) uygulandı. Sıçanların anestezisinde, ketamin (Ketalar® Parke Davis) 90mg/kg ve xylazine (Rompun® Bayer) 10 mg/kg kombinasyonu intraperitoneal kullanıldı.

Anestezi sonrası denekler operasyon masasına alındı. Sıçan stereotaksi aleti altında cerrahi saha tra edildikten sonra % 10 ' luk povidon iyot solüsyonu (Betadin® Kansuk) ile cilt antisepsisi gerçekleştirildi. Sagittal sütür

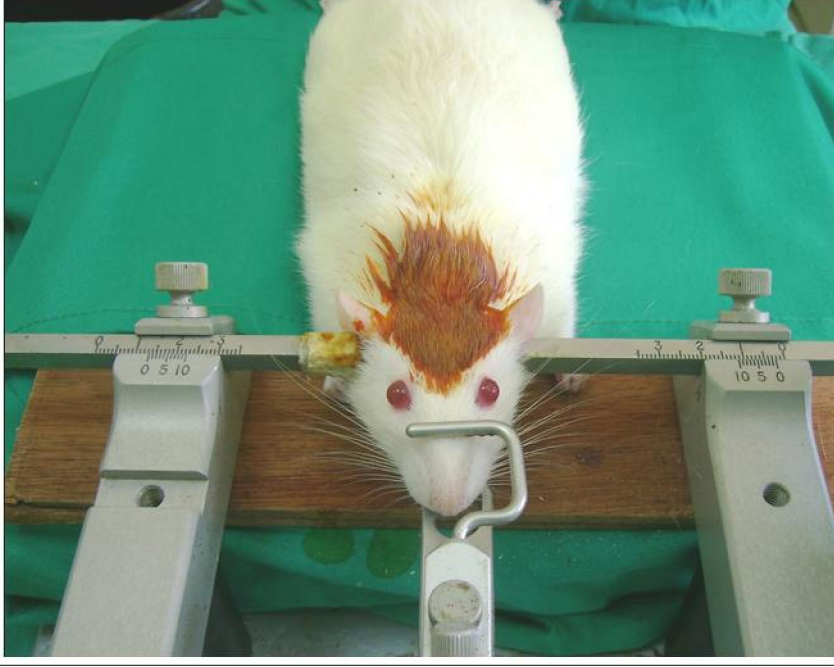
boyunca 2 cm' lik orta hat insizyonuyla cilt, cilt altı geçildi. Cilt galea ile birlikte hemostaz klempı yardımı ile orta hattın her iki yana retrakte edildi. Bregma (koroner ve sagital sütünlerin birleşimi) ortaya kondu. Bregma noktası referans alınarak daha önceden belirlenmiş olan lateral ventrikül ve subtaımik nükleusa ait koordinatlara uygun olacak şekilde giri noktaları tespit edildi. SHAM ve 6 - Hidroksidopamin grubunda bregmanın arkasına, orta hattın soluna tek taraflı burr holeler açıldı. Subtaımik nükleotomi grubunda aynı lokalizasyonlara iki taraflı ~0.5 cm² ' lik burr hole alanı oluşturuldu. Sıçan stereotaksi aletine fiixe edilmiş 10 mikrolitrelik hamilton i nesı ile lateral ventrikül içine bregmanın 0.9 mm posteriorundan, 1.4 mm lateralinden girilerek 4 mm derinliğe ulaşılmca (AP-0.9,ML 1.4,DV-4); SHAM grubunda, 2 mikrolitre % 0.2 askorbik asit; 6 - Hidroksidopamin grubunda, 2 mikrolitre 6 - Hidroksidopamin solüsyonu 5 dakika içerisinde yavaş yavaş verildi. Subtaımik nükleotomi grubunda ventrikül içine 6-Hidroksidopamin enjeksiyonunu takiben her iki subtaımik nükleusa [bregmanın -3.8 mm posteriorunda, 2.5 mm lateralinde ve -8 mm derinlikte (AP -3.8, ML 2.5, DV -8)] hamilton i nesı ile 0.5 nmol (0.1mikrolitre) kainik asit subtaımik nükleotomi amacı ile 5 dakika içerisinde yavaş yavaş enjekte edildi.



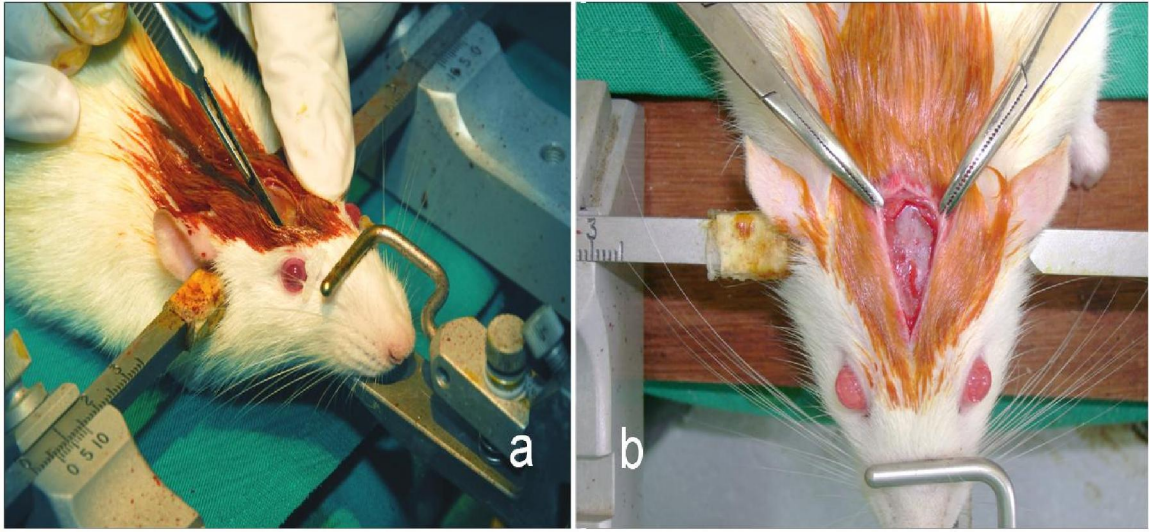
ekil 2 : Sıçan sterotaksi aleti



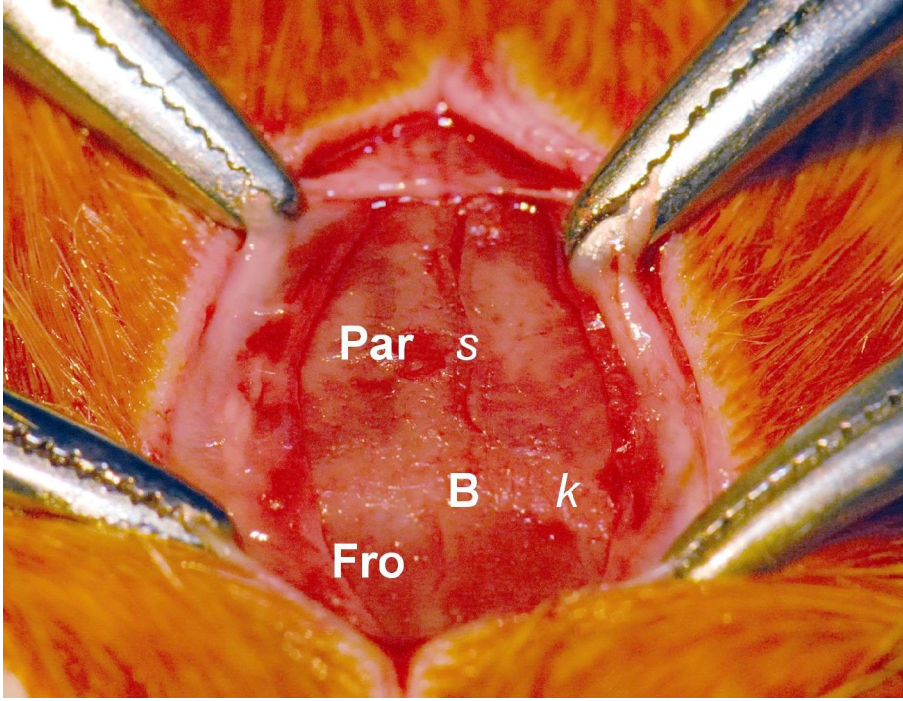
ekil 3 : Sıçanın başının sterotaksi aleti ile tesbit edilmesi ve farklı açılardan görünümü (a, b, c, d).



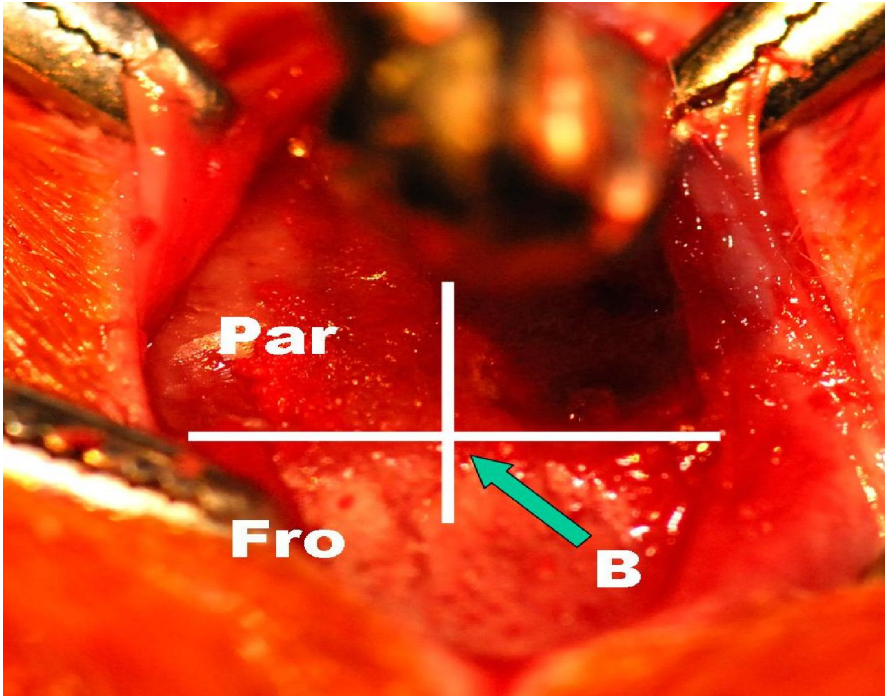
ekil 4: Cerrahi öncesi insizyon sahasının antiseptik amaçlı boyama i lemi.



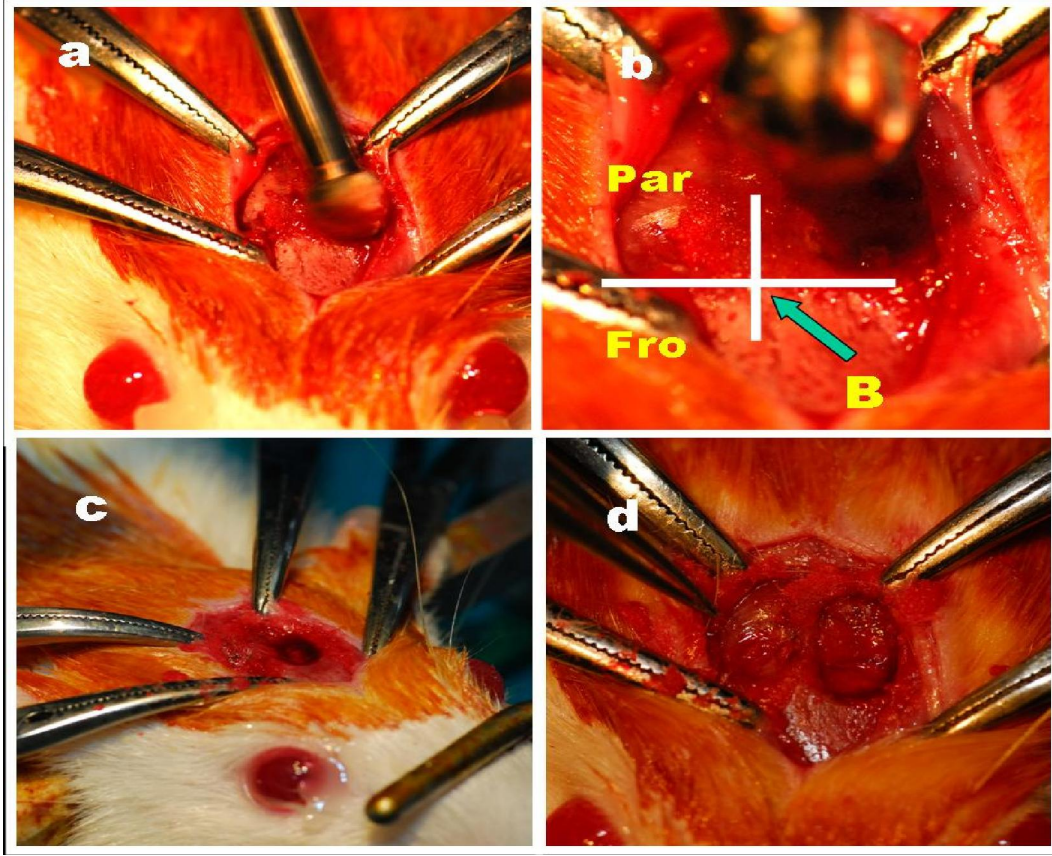
ekil 5 : a ; 15 nolu bistüri ile cilt nsizyonu, b ; retrakte edilmi cilt görünümü.



ekil 6: nsizyon sonrası ve retrakte edilmi galea. B: Bregma , k : koroner sütün, s : sagital sütün, Fro : Frontal kemik, Par : Paryetal kemik



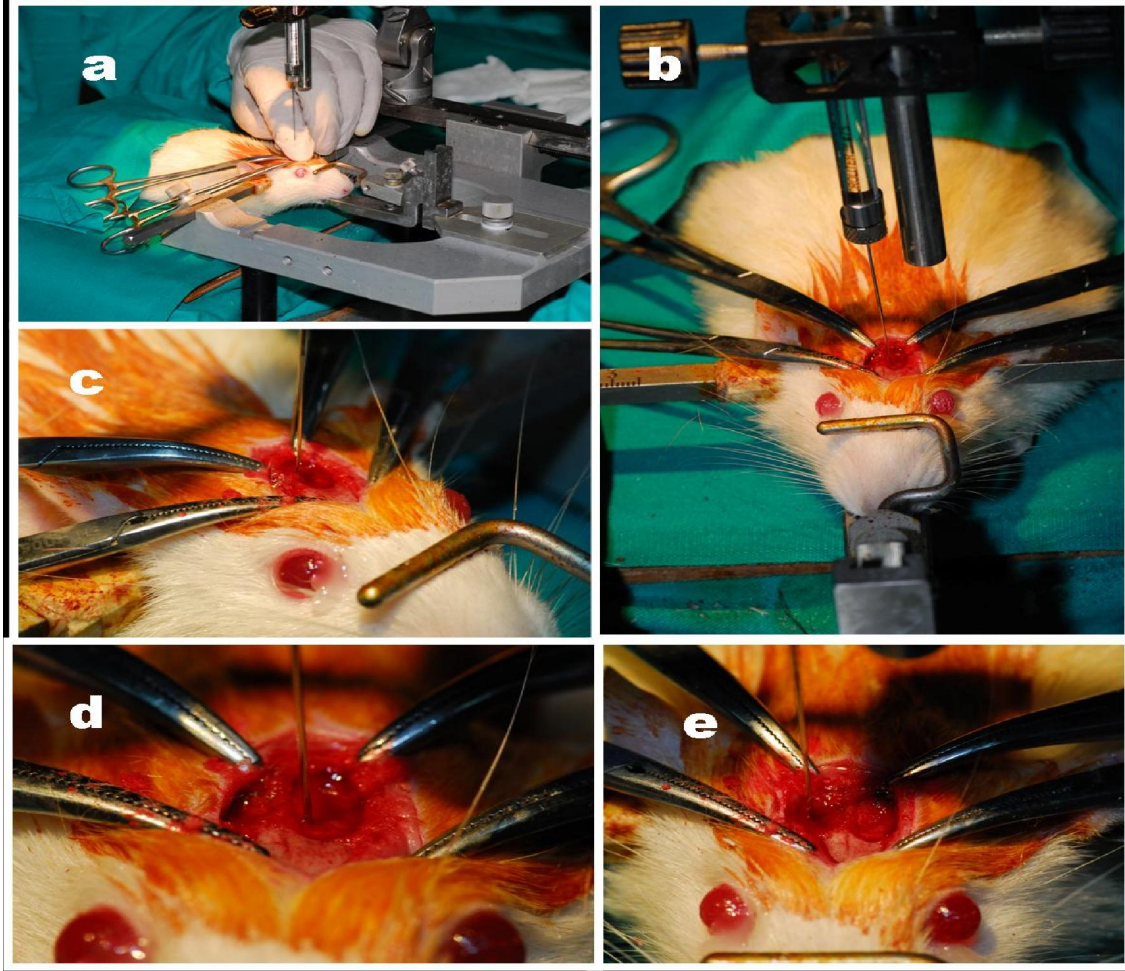
ekil 7: Bregma referans noktası alınarak paryetal kemi e burr hole açılmasının yakından görünümü. Fro : Frontal kemik, Par : Paryetal kemik , B: Bregma



ekil 8 : a, b : Bregma referans noktası alınarak pariyetal kemi e burr hole açılması Fro : Frontal kemik, Par : Paryetal kemik , B: Bregma , c : tek taraflı d : iki taraflı burr hole görünümü

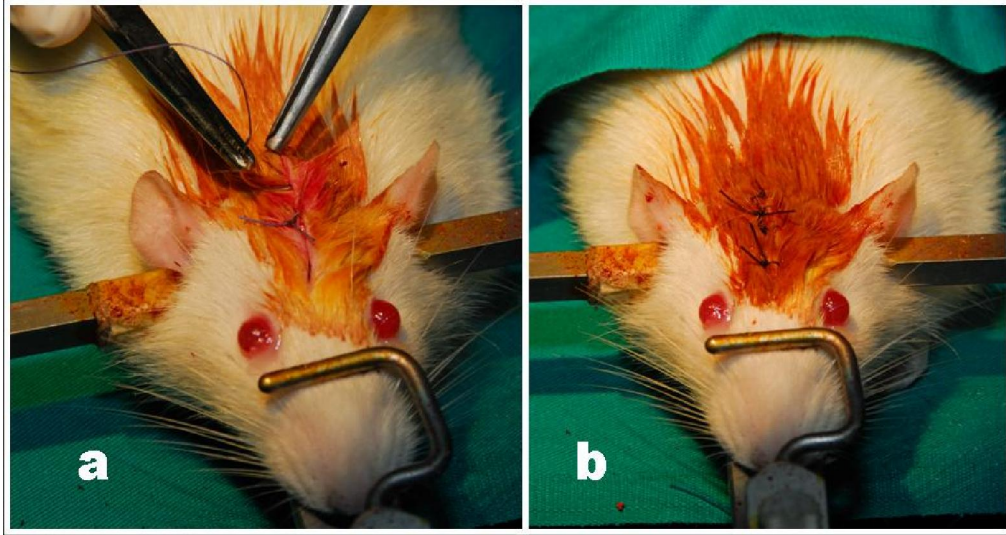


ekil 9 : 5 ve 10 mikrolitrelik hamilton i neleri ve ilaçlar (desipramine ve kainik asit)



ekil 10 : a, b, c :bregma noktasına göre koordinat hesaplama.d –e :Her iki burr haleden lateral ventrikül içine ve lezyon yapmak için hedeflenen koordinatlara hamilton i nesile 6 – OHDA ve kainik asit enjeksiyonu.

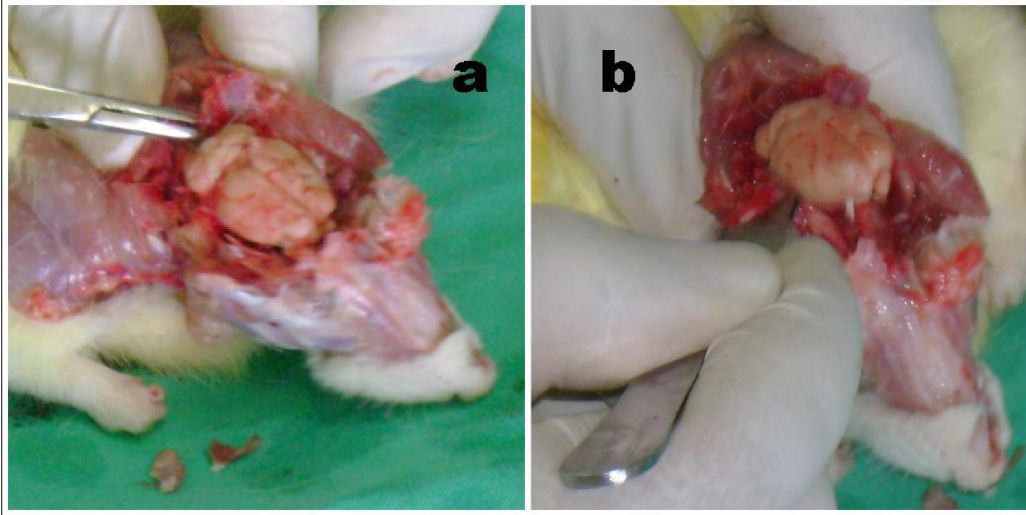
Deney grubundaki her denekte bu cerrahi i lem uygulandıktan sonra cilt altı ve cilt sütüre edildi. Denekler daha sonra ısıtmakta olan kafeslerine yerle tirildi. Burada uyanan deneklerin vücut sıcaklı ı sabit tutuldu. Ayrıca i lem sonrası 3 gün boyunca içtikleri suyun içine parasetamol 2 mg/kg konuldu.



ekil 11 : Cerrahi i lem sonrası cildin sütüre edilmesi.

3.2- Perfüzyon i lemi ve mounting

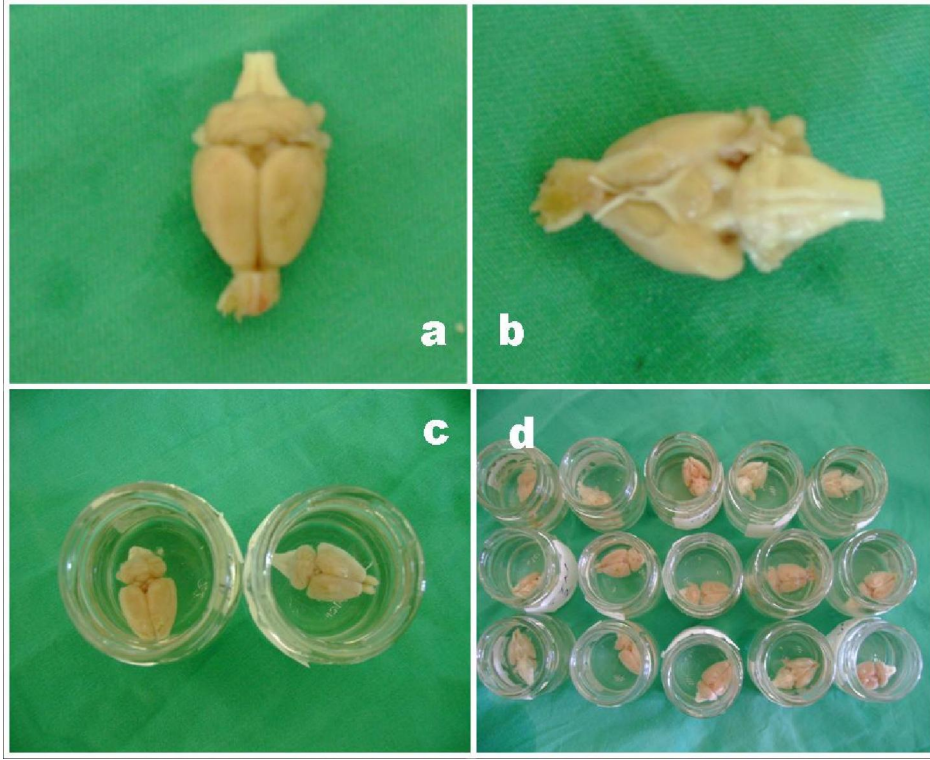
Tüm deneklere birinci ayın sonunda perfüzyon - fiksasyon i lemi uygulandı. Perfüzyon a amasında ketamin (Ketalar® Parke Davis) 90 mg/kg ve xylazine (Rompun® Bayer) 10 mg/kg kombinasyonu intraperitoneal olarak uygulandıktan sonra transkardiyak yolla sıçanların sol ventrikülüne kanülasyon yapılarak sırası ile 0.1 M fosfat buffer 300 – 350 ml ardından % 4 paraformaldehyde 300 - 400 ml verilerek tüm kan bo alana kadar i leme devam edildi. Perfüzyon tamamlandı. Perfüzyondan 2 saat sonra beyinler çıkartıldı. Takiben % 4 paraformaldehit ve % 15 lik sukroz (sigma chemical Co.) solüsyonu içerisinde + 4 °C de 1 gece bekletildi. Ertesi gün beyinler sıvı azot tankında ani ekilde dondurularak - 80 °C de muhafaza edilmek üzere kodlanarak patoloji bölümüne teslim edildi.



ekil 12 : Perfüzyon i lemi sonrası sıçan beyninin çıkartılması



ekil 13 : Sıçanların perfüzyon i lemi sonrası beyinlerinin çıkartılması ve perfüze edilmi sıçanlar.



ekil 14 : a – b :Sıçan beyinlerinin alttan ve üstten görünümü c – d : Sıçan beyinlerinin sukroz ve formaldehitli solüsyon içerisinde fikse edilmesi.

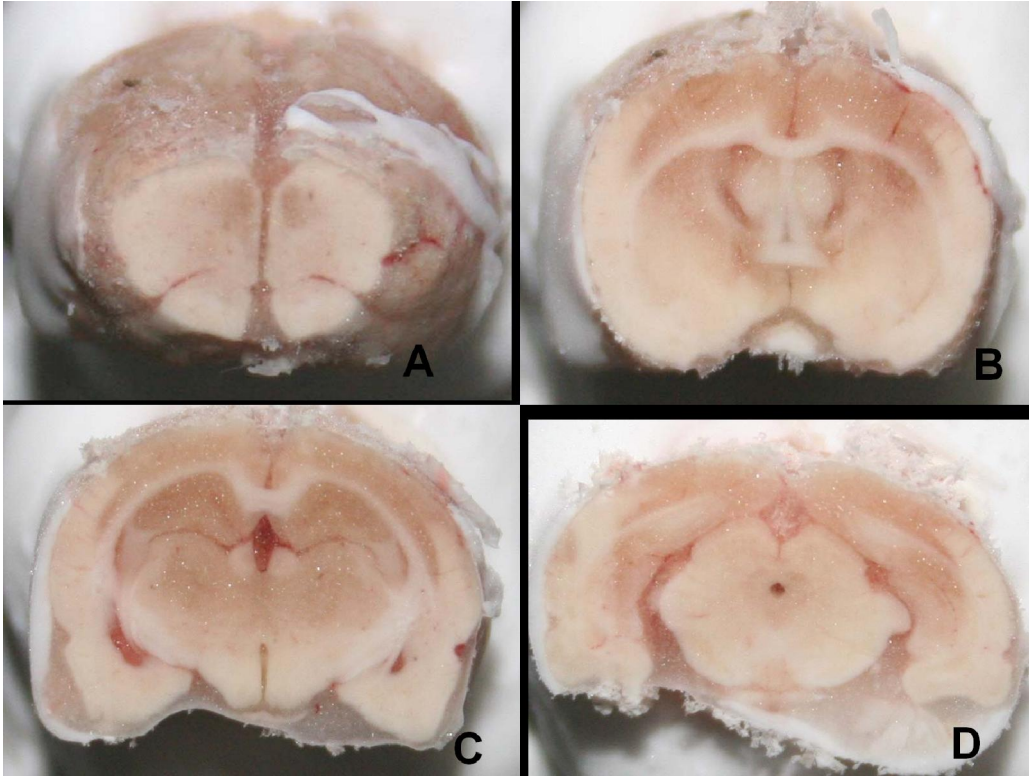
Boyama öncesinde beyinlerden kesit alımı - 26 °C de yapıldı. Cryostat altında (Leica marka frozen cihazı ile) 30 mikrometrelik kesitler elde edildi. Her sıçan beyni anatomik özelliklerine göre A, B, C ve D olmak üzere 4 ayrı bölgeye ayrıldı.

Tablo 1 : Sıçan beyninin anatomik bölgeleri

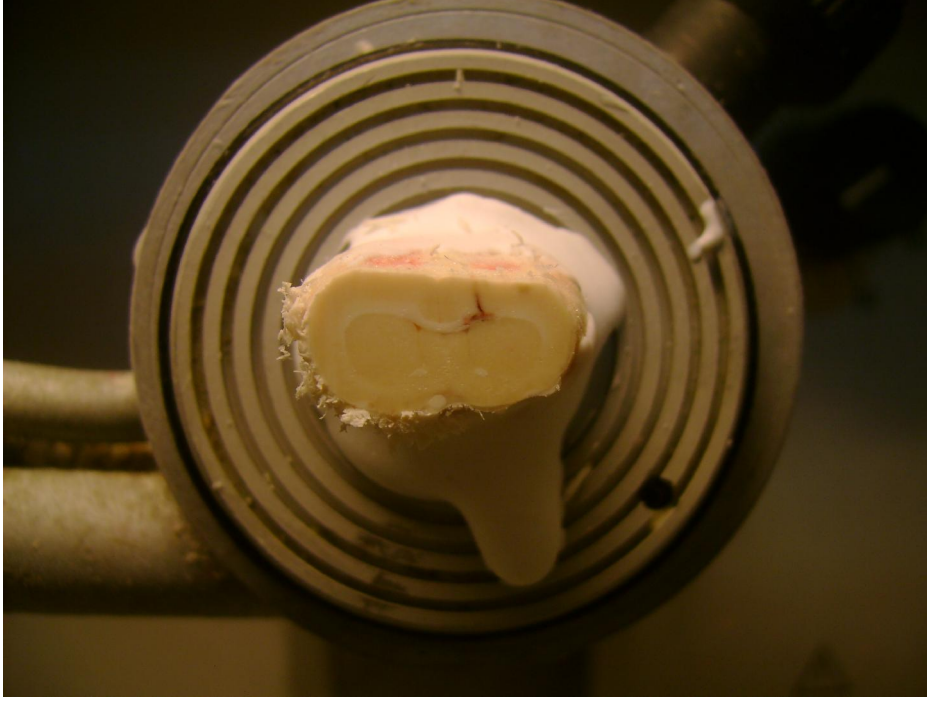
A BÖLGES	Rhinal sulcusların belirginle ti i bölgeden 3. ventrikülün görülmeye ba ladı ı yer.
B BÖLGES	3. ventrikülden hipokampüs ba ının görüldü ü yer.
C BÖLGES	Hipokampüs ba ından aquaductus serebrinin (4. ventrikül ba ı) görüldü ü yer.
D BÖLGES	Aquaductustan serebellumun görülmeye ba landı ı alan.



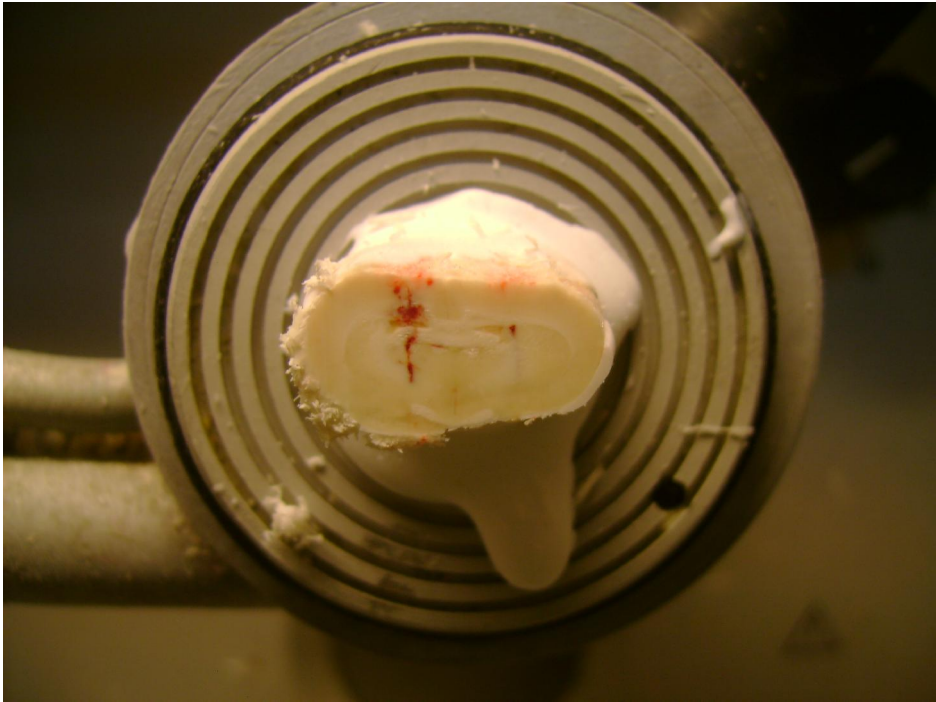
ekil 15 : Leica marka mikrotom cihazı, doku kesitlerinin alınması



ekil 16 : Sıçan beyninin anatomik bölgeleri.



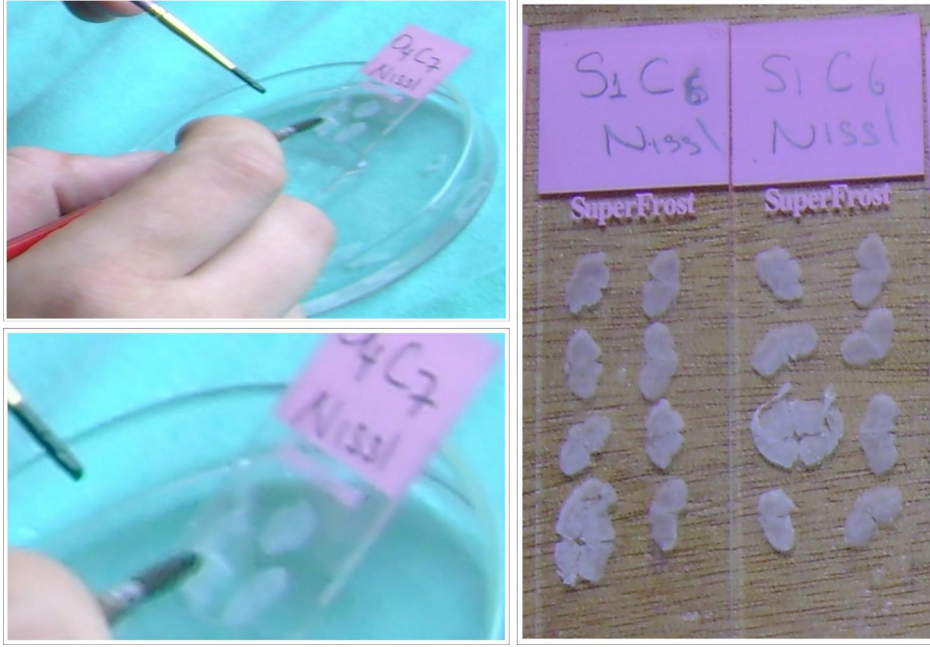
ekil 17 : Korteksten sol lateral ventriküle uzanan (6 – OHDA enjeksiyonu sonrası) hamilton i ne trasesi.



ekil 18 : Subtalamik nükleusa kainik asit enjeksiyonu sonrası hamilton i ne trasesi.

Her bölge 10 ayrı kutuya konulacak ekilde ortalama 85 - 110 spesmen ,ince uçlu resim fırçası ile dikkatlice yerle tirildi. Her kutu kendi bölgesinin tüm kesitlerini ihtiva etti. Sonuçta bir sıçan beyni 40 kutuya bölü türüdü. Boyama öncesinde kesitleri hazırlanmı olan beyinler – 80 °C de muhafaza edildi. Bazal ganglionlardan elde edilen kesitlerde (her sıçanın C Bölgesi) substantia nigradaki dopaminerjik nöron kaybını de erlendirmek amacıyla nissl boyama tekni i uygulandı. Nissl boyaması sonrasında hücre sayımı ile dopaminerjik nöron kaybı ortaya kondu.

Nissl boyaması öncesinde daha önce kutulara da ıtılmı olan kesitler 5 ml Tris buffered saline (TBS) solüsyonu içerisinde bir gün + 4 °C de bekletilip ertesi gün yine TBS solüsyonu içerisinde yüzdürülerek ince resim fırçası yardımıyla arzlı (polilisin) lam üzerine yayıldı. Kullanılan lamlar polilisin ile dolu ale kap içerisinde 30 dakika bekletilip ardından etüvde 70 °C de kurutularak hazırlandı. ki gün boyunca oda sıcaklı ında kurumaya bırakılan polilisinli lam üzerindeki kesitler nissl boyamasına hazır hale getirildi. TBS solüsyonu 61 gram trizma base, 90 gram NaCl, 1000 ml distile su pH ını 7.6 da nötürlemek amacıyla içerisinde HCl (Hidroklorik asit) eklenerek balon joje içerisinde hazırlandı.



ekil 19 : Mounting i lemi ve lam üzerine yayılmış doku kesitleri.



ekil 20 : Resim fırçasıyla doku kesitlerinin lam üzerine yayılması.

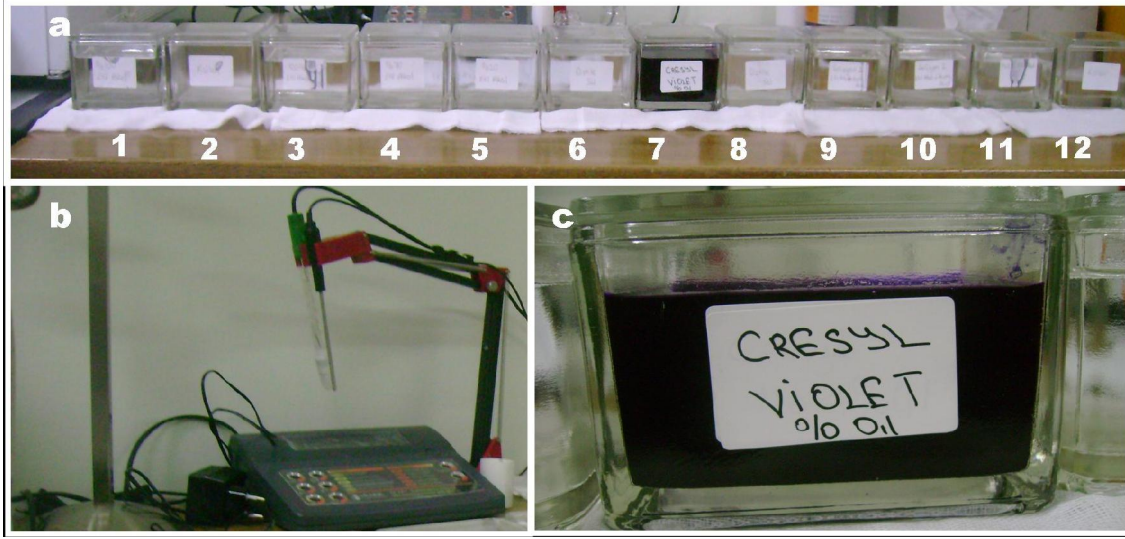
3.3- Nissl boyama tekni i

Tablo 2 : Histolojik incelemeler için kullanılan nissl boyama yöntemi.

1.	100 % Etil alkol
2.	Xylenes
3.	100 % Etil alkol
4.	70 % Etil alkol
5.	20 % Etil alkol
6.	Distile su
7.	Cresyl Violet (0.1 gram Cresyl violet acetate + 100 cc distile su)
8.	Distile su
9.	270 ml 70 % Etil alkol + 30 ml 10 % asetik asit
10.	270 ml 100 % Etil alkol + 30 ml 10 % asetik asit
11.	100 % Etil alkol
12.	Xylenes

Spesmenler sepet i çerisine yerle tirildikten sonra 100% etil alkol i çerisinde 2 dakika , xylenes i çerisinde 2 dakika, 100 % etil alkol i çerisinde 2 dakika, 70 % etil alkol i çerisinde 2 dakika, 20 % etil alkol i çerisinde 2 dakika, distile su i çerisinde 5 dakika bekletildi, cresyl violet (0.1 gram cresyl violet acetate + 100 cc distile su) i çerisinde en az 5 dakika (kesitler çıkınca koyu mor olana kadar) beklendi. Distile suya 2 defa daldırılıp çikartıldı, 270 ml 70 % etil alkol + 30 ml 10 % asetik asit 2 defa daldırılıp çikartıldı, 270 ml 100 % etil alkol + 30 ml 10 % asetik asit 2 defa daldırılıp çikartıldı, 100 % etil alkol i çerisinde 2 dakika, xylenes i çerisinde 5 dakika bekletilerek boyama i lemi

tamamlandı. Spesmenlerin üzerine enterlan (biomount) dökülerek üzeri lamelle kapatıldı. Nissl boyama yönteminin stereolojik analiz i lemine geçildi.



ekil 21 : a – c, Nissl boyama i lemi ve solüsyon dolu kaplar b , pH metre cihazı

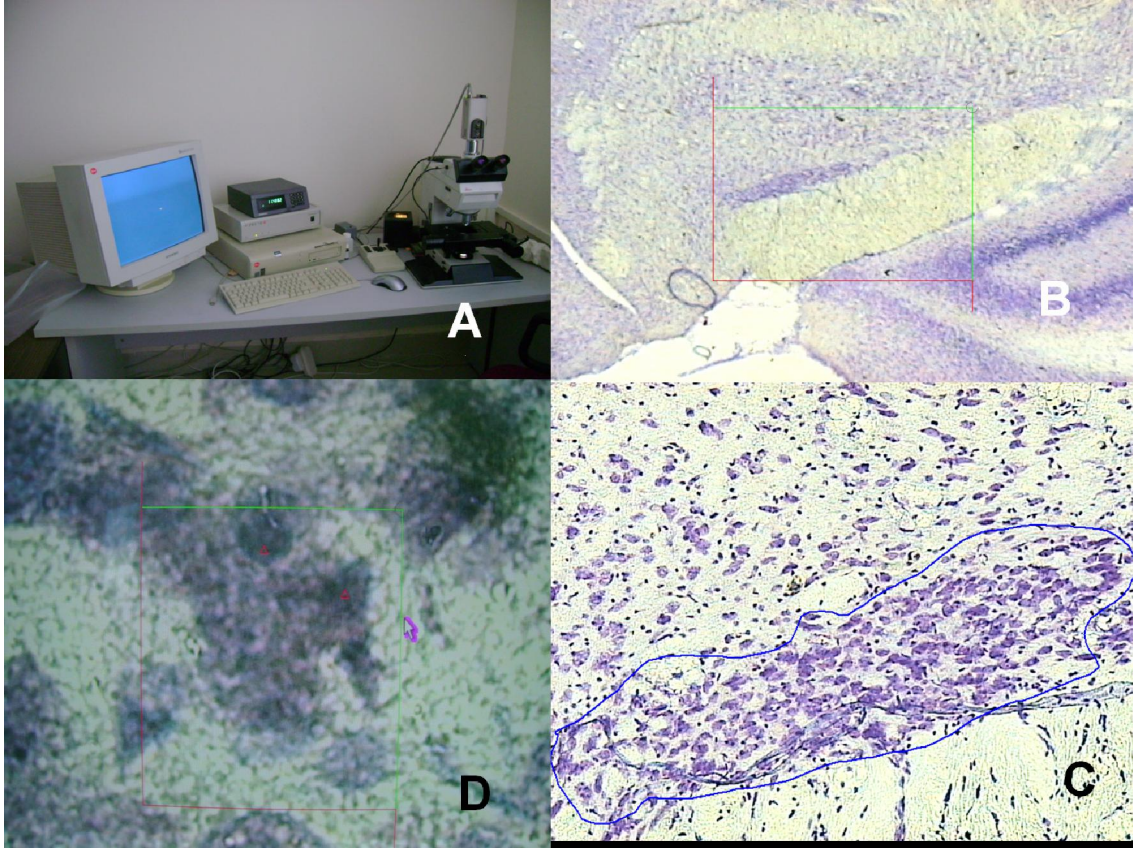
Stereolojik hücre sayımı

Stereolojik sayımlar için, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında bulunan bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemi kullanıldı. Bu sistem, stereolojik çalışmalar sırasında karşılaşılan sorunları en aza indirmekte, zamandan tasarruf sağlamakta ve elde ettiğimiz sonuçların güvenilirliği konusunda bize daha fazla garanti vermektedir.

Tablo 3 : Stereolojik sayım için leminin gerçekleştirildiği stereolojik analiz sisteminde kullanılan aletler:

1	CCD dijital kamera (Nikon coolpix E 4500, Tokyo, Japonya)
2	Resim depolama kartı(flash point 3D,Integral Technologies,Indianapolis,ABD)
3	Bilgisayar
4	Bilgisayar kontrollü spesmen monitarizasyon tablası (Prior, Rockland, MA, ABD)
5	Mikrokator (Heidenhein, Traunreut, Almanya)
6	İki mikroskopu (Nikon, Eclipse E 600 , Tokyo, Japonya)

Substantia nigra pars kompakta bölgesi ilgili kesitler (C grubundaki) iki mikroskopunda değerlendirilip sıçan beyin atlasıyla örtüldüğü kesitler temel alınarak bulundu. Substantia nigra pars kompakta nöronları, 100 x Nikon Plan Apo objektif kullanılarak sayıldı, total büyütme 1680 x idi (do ru algılama sa lanması için maksimum izin verilen de er). Her nöron tarafsız sayım kuralına göre sayıldı.



ekil 22 : A : Stereoloji cihazı , B : Substantia nigra pars retikulata ve kompaktanın görünümü , C : Substantia nigra pars kompakta sınırlarının gösterilmesi , D : Substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöronların tesbiti ve sayımı

Substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöronal hücrelerin sayılmasında nasıl bir örnekleme ve çalıtma stratejisinin izleneceği yapılan ön çalıtma ile belirlendi. Sayımlarda optik parçalama yöntemi kullanıldı. Sayım sırasında elde edilen veriler Excel çalıtma sayfasına girilerek kaydedildi. Sayım sırasında, kesitlerin hangi deney grubunda olduğunu bilinmediğinden, sayımlar tarafsız olarak gerçekleştirildi. Tüm gruplarda, substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöronlar sayıldı.

3.4- Sitokrom oksidaz boyama tekni i

Nissl boyama tekni inde ayrıntılı biçimde anlattı ımız polilisinli lamlar, standart prosedürlere uyularak (kullanılan lamlar polilisin ile dolu ale kap içersinde 30 dakika bekletilip ardından etüvde 70 °C de kurutuldu) sitokrom oksidaz boyama yöntemi için tekrar hazırlandı. Eksi 80 °C de muhafaza edilen dokular TBS solüsyonu ile sulandırılıp, + 4 °C de 24 saat geçtikten sonra polisinli lamlar üzerine suda yüzdürme yöntemi ile (mounting) yayıldı. Dokuların lam üzerine yapı ması için iki gün beklendi.

Sıçan beyninin A, B, C, D bölgelerinin tümünden yayma i lemi yapıldı.

A bölgesi: CC (korpus kallosum), LO (lateral orbital korteks), M1 (primer motor korteks), M2 (sekonder motor korteks).

B bölgesi : MGP (medial globus pallidus), T (talamus bölgesi)

C bölgesi : STh (subtalamik nükleus), SNCD (substantia nigra pars compacta)
SNRD (substantia nigra pars retikulata).

D bölgesi: DRN (dorsal raphe nükleus) larının metabolik aktivitelerinde olan de i ikliklerin saptanması amacıyla Sitokrom oksidaz boyama yöntemi uygulandı.

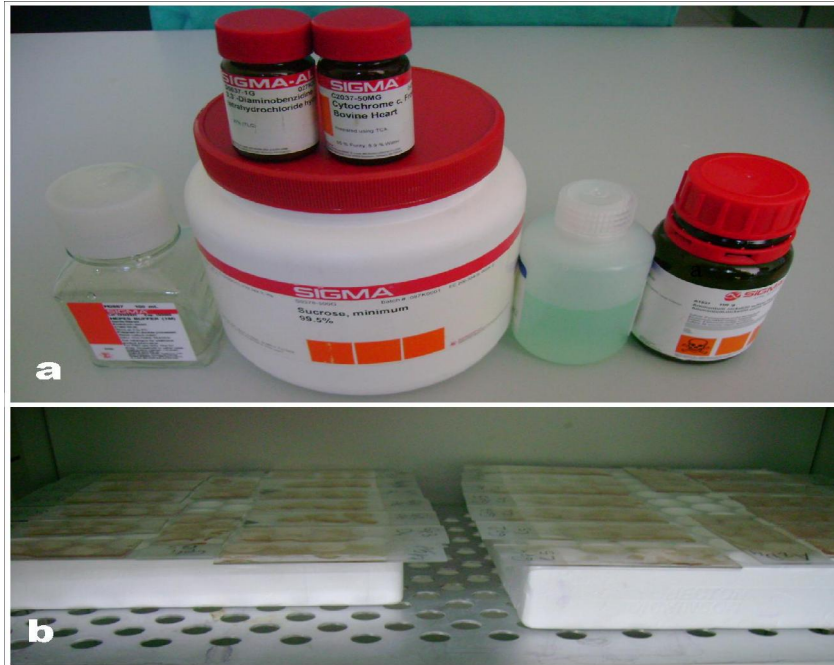
Bu yöntem 3 a amada uygulandı.

3.4.1- inkubasyon a aması

Tablo 4 : Sitokrom oksidaz boyamasında inkübasyon için kullanılan solüsyon içerikleri ve oranları

0.1 M HEPES pH: 7.4 (sigma cat. No : SIH0887)	87,5 ML
Cytochrome C (sigma cat. no: C – 2037)	22,4 MG
DAB (3,3'- diaminobenzidine)(sigma cat.no: D-5637)	115,23MG
Sucrose (sigma cat. no: SIS9378)	4,5GR
1 % Ammonium nickel sulfate (sigma cat. no: SIA1827)	12.5 ML

Toplam 100 ml olarak hazırlanan solüsyon otomatik mikropipet kullanılarak her kesite 500 mikrolitre olacak ekilde lam üzerine döküldü. Lamlar etüv içersinde 37 santigrad derecede 45 – 90 dakika bekletildi.



ekil 23 : a : Sitokrom oksidaz boyamasında kullanılan ilaçlar
b : Boyanımı preparatların etüvde bekletilmesi

3.4.2 - Fiksasyon a aması

Tablo 5 : Sitokrom oksidaz boyamasında fiksasyon a aması için kullanılan solüsyon (NBF: neutral buffered formaldehyde) içerikleri ve oranları

Sodium phosphate monobasic ($\text{NAH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$)	4 GR
Sodium phosphate dibasic ($\text{NAHPO}_4\text{H}_2\text{O}$)	6 GR
H ₂ O (distile su)	1 L TRE
Paraformaldehyde	40 GR

1 litre distile su içersine sırasıyla sodyum fosfat monobazik ($\text{NAH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$) 4 gram, sodyum fosfat dibazik ($\text{NAHPO}_4\text{H}_2\text{O}$) 6 gram katıldı ve 60 °C ye ısıtılan solüsyona 40 gram toz halinde paraformaldehid eklendi. Karı tırma i leminin ardından solüsyon oda sıcaklı nda bırakıldı.

Etüvden çıkartılan lamlar NBF solüsyonü içinde 10 dakika fiksasyon i lemine tabi tutuldu. Bu ekilde immunohistokimyasal reaksiyonun durdurulması sa landı.

3.4.3 - Dehidratasyon a aması

Tablo 6 : Sitokrom oksidaz boyamasında dehidratasyon a aması için kullanılan solüsyon içerikleri ve oranları

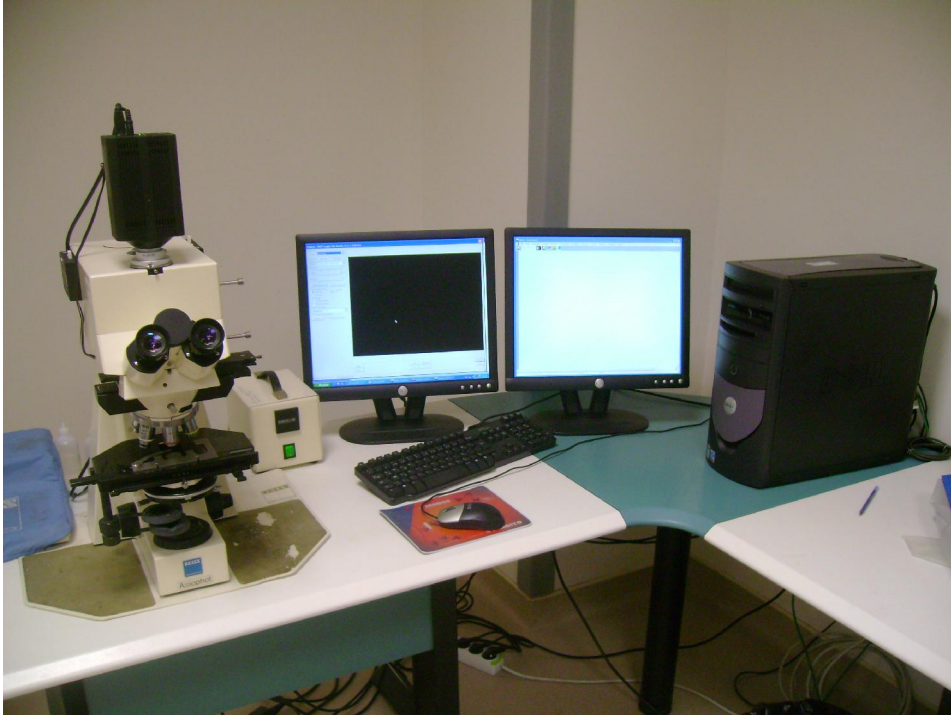
1	Distile H2O	100 %
2	Distile H2O	100 %
3	Etil alkol	70 %
4	Etil alkol	95 %
5	Etil alkol	100 %
6	Etil alkol	100 %
7	Xylene	100 %
8	Xylene	100 %

Lamlar NBF solüsyonu içinde 10 dakika bekletildikten sonra dehidratasyon amacı ile sırasıyla; birinci distile su alesine 10 defa batırılıp çıkartıldı ardından tabloda belirtilen sıra ile tüm ale kaplarındaki solüsyonlarda 2 er dakika bekletilerek dehidratasyon i lemi tamamlandı. Spesmenlerin üzerine enterlan (biomount) dökülerek lamelle kapatıldı.

3.4.4 - Sitokrom oksidaz boyama sonuçlarını de erlendirme yöntemi

Sitokrom oksidaz boyama yönteminin amacı nöronal aktivitenin gösterilmesidir. Sitokrom oksidaz endojen metabolik i aretleycidir. Sitokrom oksidazın bu özelli i kullanılarak yapılan boyama sonrası dokuların bu boyayı tutma azlı ı veya fazlalı ı dokunun (anatomik bölgenin) metabolik olarak aktif mi yoksa metabolizmasında yava lama mı oldu u konusunda bize direk olarak fikir vermektedir. Bu aktivite de i iklikleri bilgisayar

ortamında **IMAGE J** programı ile gösterilmekte olup çekilen bölgesel foto rafların optik kırılma indeksleri kararlaştırılarak dokunun aktivitesini belirlemek mümkündür. Bu amaçla, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapılan imaj değerlendirme çalışmasında; Işık mikroskobu (Zeiss Axiophot, Almanya), CCD dijital kamera (Nikon Coolpix E 4500, Tokyo, Japonya) ve IPS 32 (32 Bits interaktif image processing version 4.41) siyah beyaz foto raflama programı kullanıldı.



ekil 24 : Sitokrom oksidaz boyamasında foto raflama için kullanılan bilgisayar destekli mikroskop düzeni

3.4.5 - Foto raflanan anatomik bölgeler

Motor kontrolde etkili, indirekt ve direkt yollarda yer alan bazal ganglionlar, kortikal özel anatomik alanlar ve bu bölgeler arasındaki yollar Paxion ve Watson sıçan beyin atlası referans alınarak foto raflandı.

Tablo 7 : Sitokrom oksidaz boyama sonrası doku kesitlerinden foto raflanan bölgeler;

A BÖLGES	B BÖLGES	C BÖLGES	D BÖLGES
-CC(korpus kallosum)	-GP (globus pallidus internus)	-STh(subtalamik nükleus)	- DRN(dorsal raphe nükleus)
- LO (lateral orbital korteks)	-T(talamus bölgesi)	-SNCD(substantia nigra pars kompakta)	
-M1(primer motor korteks)		-SNRD(substantia nigra pars retikulata)	
-M2(sekonder motor korteks)			

Her bir sıçandan her bölge için 5 adet olmak üzere SHAM grubunun A bölgesinden (LO için 40, CC için 40, M1 için 40, M2 için 40 adet) toplam 160 adet; B bölgesinden (GP için 40, T için 40) toplam 80 adet; C bölgesinden (STh için 40, SNCD için 40, SNRD için 40) toplam 120 adet; SHAM grubunun tümünden 360 adet foto raf çekildi. Aynı ekilde 6 - OHDA ve STN gruplarından da 360 ar adet foto raf çekildi. Genel toplamda 1080 adet foto raf **IMAGE J** promramında de erlendirilmeye alındı.

Tüm bu bölgelerin metabolik aktivitelerindeki de i iklikler optik kırılma indeksleri baz alınarak **IMAGE J** programında dansiteleri ölçülerek rakamsal de erler olarak ifade edildi. Excel ortamına kaydedilen de erler istatistiksel çalı maya hazır hale getirildi.

3.5 - Kullanılan istatiks el yöntemler

statistiksel de erlendirmeler bilgisayar ortamında " SPSS 15 for Windows " programıyla yapıldı. Nissl boyama yöntemi kullanılarak yapılan substantia nigradaki dopaminerjik nöron sayımı ve sitokrom oksidaz boyama yöntemi kullanılarak yapılan optik kırılma indeksi bazlı metabolik aktivite de i ikliklerinin sonuçları nonparametrik istatistiksel yöntemlerle de erlendirildi.

Substantia nigra dopaminerjik nöron kaybı SHAM, 6 - Hidroksidopamin, subtalamik nükleotomi gruplarının üçlü kar ıla tırılması için " Kruskall - Wallis " testi kullanıldı. Grupların ikili kar ıla tırılmasında ise bonferroni düzeltmeli " Mann - Whitney U " testi kullanıldı. De erlendirmede üçlü kar ıla tırmalı testte $p < 0.05$, ikili kar ıla tırmalı testte $p < 0.016$ olması anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

Optik kırılma indeksi bazlı metabolik aktivite de i ikli i sonuçları SHAM, 6 – Hidroksidopamin, subtalamik nükleotomi gruplarının üçlü kar ıla tırılması için " Kruskall - Wallis " testi kullanıldı. Grupların ikili kar ıla tırılmasında ise bonferroni düzeltmeli " Mann - Whitney U " testi kullanıldı. De erlendirmede üçlü kar ıla tırmalı testte $p < 0.05$, ikili kar ıla tırmalı testte $p < 0.016$ olması anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

4- BULGULAR

4.1 - Sitokrom oksidaz boyama bulguları

SHAM ve 6 – OHDA grubunda korpus kallozumun metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.016$).

6 – OHDA ve lezyon grubunda korpus kallozumun metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.016$).

SHAM ve 6 – OHDA grubunda lateral orbital korteksin metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.016$).

6 – OHDA ve lezyon grubunda lateral orbital korteksin metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.016$).

SHAM ve 6 - OHDA grubunda motor korteksin metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında, 6 – OHDA grubunda metabolik aktivite istatistiksel olarak anlamlı ekilde artımı tı ($p < 0.016$).

6 - OHDA ve lezyon grubunda motor korteksin metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında, 6 - OHDA grubunda metabolik aktivite istatistiksel olarak anlamlı ekilde artımı tı ($p < 0.016$).

SHAM ve 6 - OHDA grubunda subtalamik nükleusun metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında 6 - OHDA grubunda metabolik aktivite istatistiksel olarak anlamlı ekilde artımı tı ($p < 0.016$).

6 – OHDA ve lezyon grubunda subtalamik nükleusun metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında 6 - OHDA grubunda metabolik aktivite istatistiksel olarak anlamlı ekilde artımı tı ($p < 0.016$).

SHAM ve 6 - OHDA grubunda entopedünküler nükleusun metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında 6 - OHDA grubunda metabolik aktivite istatistiksel olarak anlamlı ekilde artmı tı ($p < 0.016$).

6 - OHDA ve lezyon grubunda entopedünküler nükleusun metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.016$).

SHAM ve 6 - OHDA grubunda talamusun metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.016$).

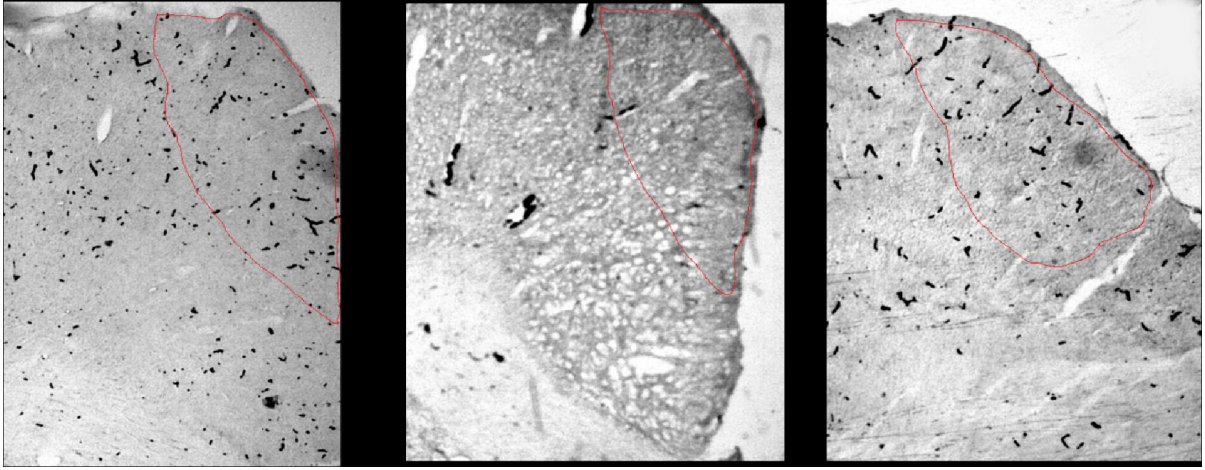
6 - OHDA ve lezyon grubunda talamusun metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.016$).

SHAM ve 6 - OHDA grubunda substansia nigra pars kompaktanın metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında OHDA grubunda metabolik aktivite istatistiksel olarak anlamlı ekilde azalmı tı ($p < 0.016$).

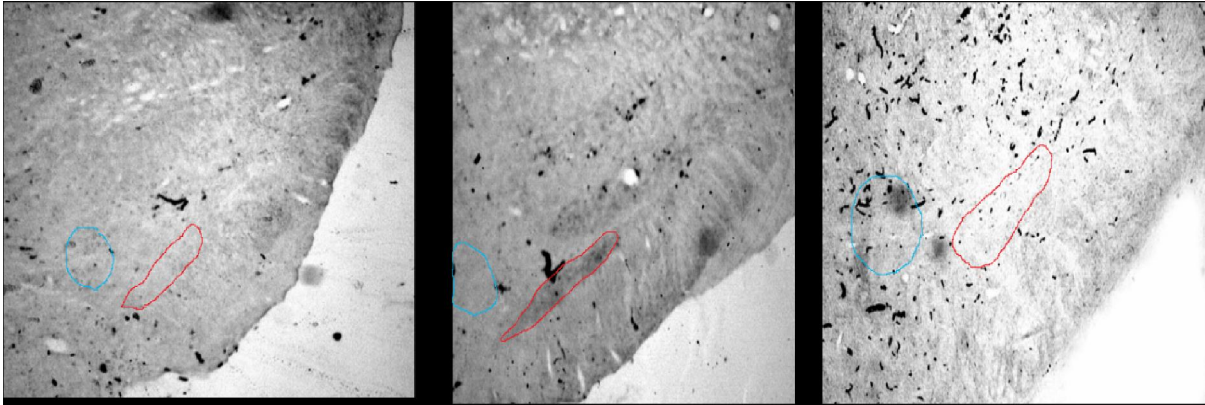
6 - OHDA ve lezyon grubunda substansia nigra pars kompaktanın metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.016$).

SHAM ve 6 - OHDA grubunda substansia nigra pars retikulatanın metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında OHDA grubunda metabolik aktivite istatistiksel olarak anlamlı ekilde artmı tı ($p < 0.016$).

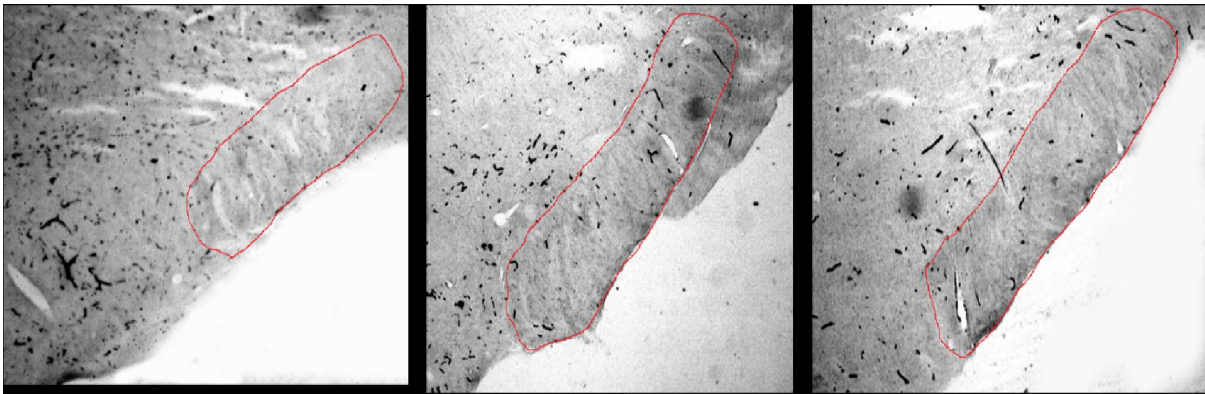
6 - OHDA ve lezyon grubunda substansia nigra pars retikulatanın metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında lezyon grubunda metabolik aktivite istatistiksel olarak anlamlı ekilde artmı tı ($p < 0.016$).



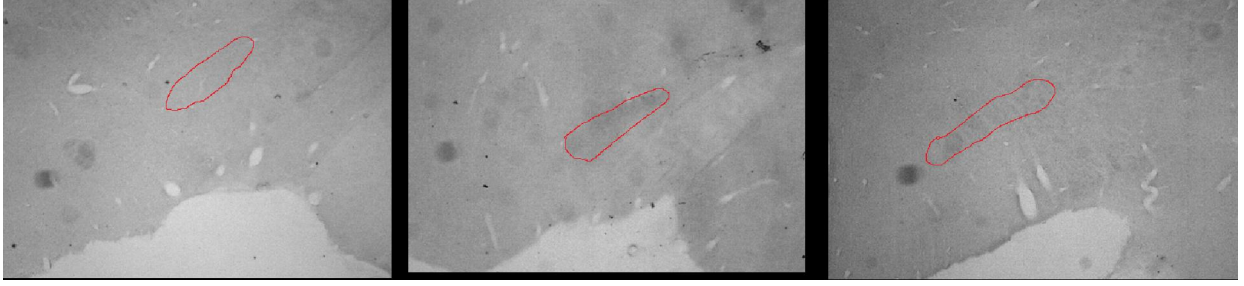
ekil 25 : SHAM, 6 – OHDA ve lezyon gruplarında sırasıyla motor korteks metabolik aktivitelerinin kar ıla tırılması.



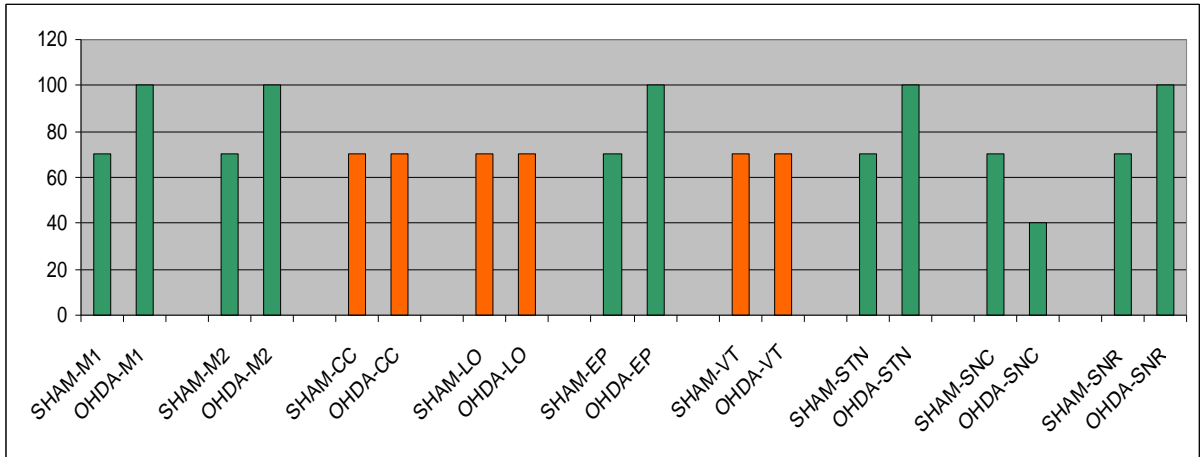
ekil 26 : SHAM, 6 – OHDA ve lezyon gruplarında sırasıyla subtalamik nukleusun metabolik aktivitelerinin kar ıla tırılması.



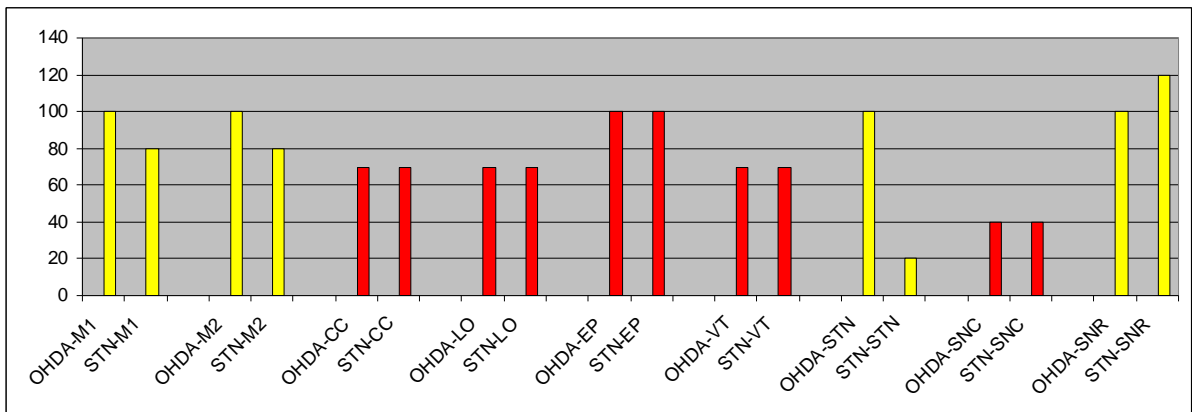
ekil 27 : SHAM, 6 – OHDA ve lezyon gruplarında sırasıyla substantia nigra pars retikulatalarının metabolik aktivitelerinin kar ıla tırılması.



ekil 28 : SHAM, 6 – OHDA ve lezyon gruplarında sırasıyla entopedünküler nükleusun metabolik aktivitelerinin karşılaştırılması.



ekil 29 : Sitokrom oksidaz boyama sonrası metabolik aktivite artı - azalı oranlarının SHAM ve 6 - OHDA grubunda grafiksel karşılaştırılması



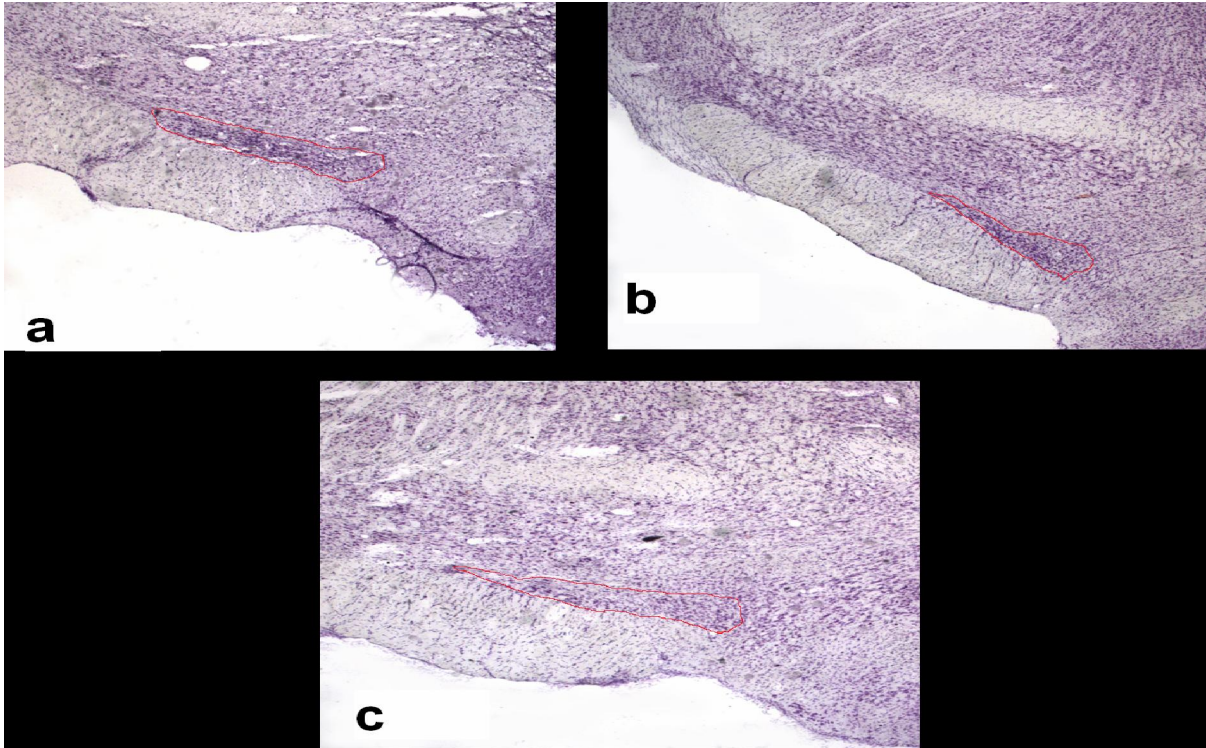
ekil 30 : Sitokrom oksidaz boyama sonrası metabolik aktivite artı - azalı oranlarının STN ve 6 - OHDA grubunda grafiksel karşılaştırılması.

4.2 - Nissl boyama bulguları

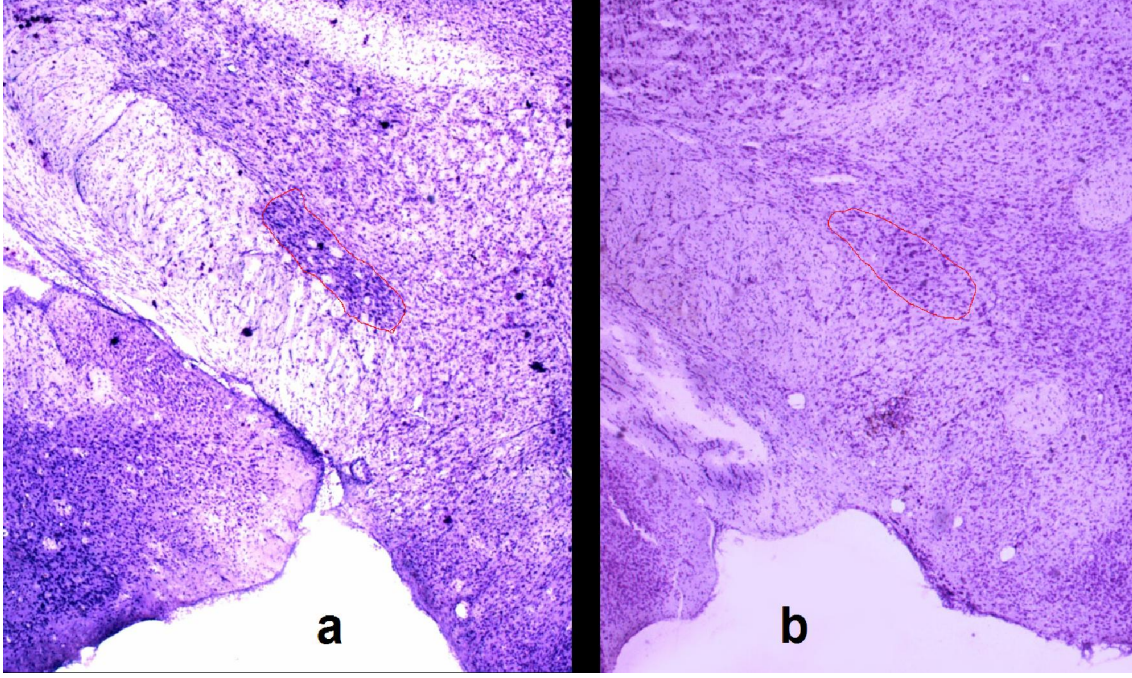
SHAM ve 6 – OHDA grubunda substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöron kaybı karşılaştırıldığında 6 – OHDA grubunda hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmı tı. ($p < 0.016$)

SHAM ve lezyon grubunda substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöron kaybı karşılaştırıldığında lezyon grubunda hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmı tı. ($p < 0.016$)

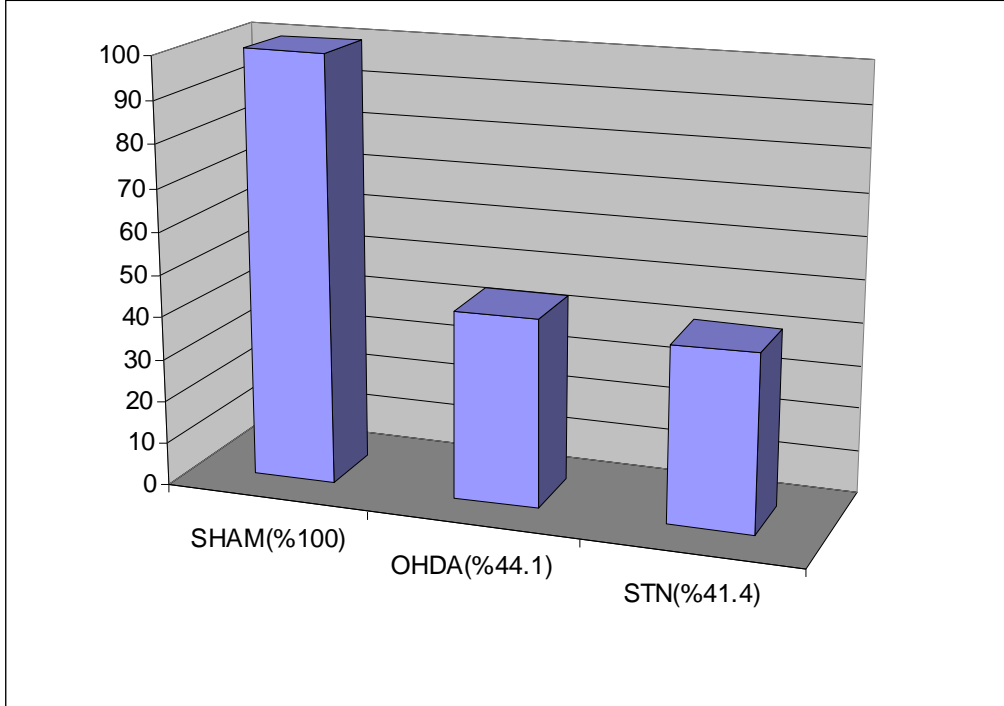
6 – OHDA ve lezyon grubunda substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöron kaybı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.016$).



ekil 31: Substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöron kaybının nissl boyama yöntemi ile gösterilmesi. a: SHAM grubu , b: 6 – OHDA grubu , c: Lezyon grubu. Dopaminerjik nöron kaybı b ve c de belirgin olarak görülmekte



ekil 32 : Kainik asit enjeksiyonuna ba lı subtalamik nukleusta nöronal hücre kaybının nissl boyama yöntemi ile gösterilmesi. a: SHAM grubu , b: Lezyon grubu. İkinci resimde nöronal kayıp belirgin olarak gözlenmektedir.



ekil 33: Nissl boyama sonrası dopaminerjik nöron kaybının grafiksel karşılaştırılması

5 - TARTI MA

Parkinson hastalığının patofizyolojisine baktığımızda, öne çıkan bulgular, substantia nigra pars kompaktada dopamin eksikliği ve buna bağlı olarak, bazal ganglion içinde direkt yolun baskılanarak, indirekt yolun aktivasyonudur (4-18). İndirekt yolun aktivasyonu, bazal ganglion çıkı nükleusları olan, globus pallidus interna (sıçanlarda entopedünküler nükleus) ve substantia nigra pars retikülatanın outputunun artmasına neden olur. Talamus üzerine inhibisyon etkisi bulunan bu output artışının, motor korteksi baskılayarak istemli hareketi süprese ettiği düşünülmektedir (4-18). Bu süpresyon klini e bradikinezi(hareketin yavaşlaması), akinezi (hareketin başlatılmaması), rijidite (pasif hareketlere karşı direncin artması) ve tremor (ritmik titremeler) olarak yansımaktadır.

Parkinson Hastalığında, elektrofizyolojik olarak indirekt yolun aktive olduğuna dair veriler olup, özellikle subtalamik nükleus ve globus pallidus internada (entopedünküler nükleus) bu aktivite artışı saptanmıştır (5,9,13,14,16-18). Gerek deneysel, gerek tedavi amaçlı yapılan subtalamik nükleus ve globus pallidus interna (entopedünküler nükleus) lezyonlarının ya da yüksek frekanslı stimülasyonun Parkinson bulgularını hafifletmesi, indirekt yolun aktivitesinin harekette ortaya çıkan bozukluğa neden olduğu hipotezini desteklemektedir (64-85).

Beyin dokusunda bölgesel nöronal aktiviteyi de erlendirmek herhangi bir fonksiyonun ölçülmesinin açıklanması açısından önemli bir yöntemdir. Bölgesel kan akımının ve glukoz kullanım miktarının veya oksidatif enzim aktivitesinin tespiti fonksiyonun açıklanmasında sıklıkla kullanılan yöntemlerdir (93,94,95).

Sitokrom oksidaz, mitokondri yapısında yer alan ve hücre içi oksidatif zincirde önemli bir enzimdir. Endojen bir metabolik i aretleyici olarak da tariflenebilir (96). Sitokrom oksidaz enzimi miktarının sinir dokusunda tespiti, ekspresyonunun ölçümü (Sitokrom oksidaz subünit I mRNA tespiti) (97,98) veya immunohistokimyasal olarak boyanması ile (99,100) gerçekte tirilebilmektedir. mmunohistokimyasal olarak dokuda tespit edilebilen sitokrom oksidazın miktarında göreceli artı , o dokuda metabolizmanın artımı oldu unun göstergesidir. Biz bu çalı mada, nöronal aktivitenin de erlendirilmesinde immunohistokimyasal olarak sitokrom oksidaz aktivitesi ölçümünü kullandık. Sitokrom oksidaz aktivitesinin direkt olarak nöronun fonksiyonuyla ili kili oldu u ileri sürülmektedir (96). Fonksiyonun, aktivitenin artmasında birinci derecede sorumlu oldu u dü ünülmektedir. Yapılan çalı malarda duyu inputlarından gelen uyarıların geçici olarak azaltıldı ı deneklerde ilgili sensoriel nöronlarda sitokrom oksidaz aktivitesinin dü tü ü, uyarıların tekrar ba lamasıyla da tekrar aktivitesinin artımı oldu u gösterilmi tir (96). Sonuç olarak nöronun eksitatör inputunun sitokrom oksidaz aktivitesini artıran en önemli etken oldu u dü ünülerek enzimin aktivite fazlalı ı o nöronun fonksiyonunun bir belirtisi olarak de erlendirilmi tir. Ancak bizim çalı mamızda ilgilendi imiz bazal ganglionlardaki, eksitatör ve inhibitör uyarılar çok yönlü ve farklı yolaklardan gerçekte mekte olup enzim aktivitesindeki artı ı direkt fonksiyonun bir göstergesi olarak de erlendirmek mümkün olmayabilir. Bu nedenle biz enzim aktivitesindeki artı ı, ilgili nöronun enerji ihtiyacının artı ı olarak yorumlamayı tercih ettik. Bu artı ın Parkinsonda veya tedavi sonucunda hareketle ortaya çıkan de i ikli in bir sebebi mi yoksa sonucu mu oldu u konusunda karar vermek için elimizdeki bilgiler yetersizdir. Bu konu ancak

hareketle ilgili tüm yolakların, eksitatör ve inhibitör uyarıların merkezleri, kompensasyon mekanizmalarının ve geri beslemelerin (feed back) tam ortaya konmasıyla anlaşılabilir.

Deneyisel Parkinson modelinde beyinde sitokrom oksidaz aktivitesinin daha önceden elde edilen sonuçlarına baktığımızda, Salin ve ark., (101), Parkinsonlu sıçanların subtalamik nükleuslarında aktivite artışı saptamamışlar, Breyse ve ark., (98) Parkinsonlu sıçanların subtalamik nükleuslarında aktivite artışı saptarken, entopedünküler nükleuslarında aktivite artışı saptamamışlar, Benazzouz ve ark., (97) subtalamik nükleus ve substantia nigra retikülata da aktivite artışı saptarken, globus pallidus eksternada azalma saptamışlar, Porter ve ark., (99), Nakao ve ark., (102) ve Blandini ve ark., (100) ise subtalamik nükleus, substantia nigra pars retikülata, entopedunkular nükleus ve globus pallidus eksternada aktivite artışı saptamışlar ve Kaya ve ark., (103) Parkinsonlu sıçanların subtalamik nükleuslarında aktivite artışı saptamışlardır.

Bu çalışmada 6 – OHDA ile Parkinson oluşturan sıçanlarda subtalamik nükleusda, entopedünküler nükleusda, substantia nigra pars retikülata da ve motor kortekste aktivite artışı saptanmakla birlikte, talamusda, lateral orbital kortekste ve korpus kallozumda belirgin bir aktivite değişikliği saptanmadı. Daha öncede tartışıldığı üzere Parkinson olgularında direkt yolun kesintiye uğraması, indirekt yol ile hareketin miktarına ve organizasyonun bozucu aktivitesine yol açtığı düşünülmektedir. 6 - OHDA ile Parkinson oluşturan sıçanlarda subtalamik nükleus, entopedunkular nükleus ve substantia nigra pars kompakta da gözlenen aktivite artışı da bu öngörüğü destekler niteliktedir.

Son yıllarda Parkinson hastalığında cerrahi yöntem olarak uygulanan subtalamik nükleusun inaktivasyonu (gerek lezyon gerek derin beyin

stimulasyon yoluyla) bu metabolik aktiviteyi nasıl etkilemektedir diye dü ündü ümüzde ise literatürde veriler oldukça sınırlıdır. Klinik verilerin bazılarına göre Parkinson hastalarında yapılan PET (pozitron emisyon tomografi) çalı malarında korteksde oksijen ve glukoz metabolizması ve kan akımında azalma saptanmı tır (104,105). Bunun yanında tek taraflı subtalamik nükleus ablasyonu yapılan Parkinsonlu bir hasta grubunun PET çalı masında, lezyon tarafında mezensefalonda ve daha çok substantia nigra pars retikülata olmak üzere, internal globus pallidus, ventral talamus ve ponsta da metabolik aktivitede belirgin azalma saptanmı tır (106). Ceballos - Baumann ve ark (107), ise ilginç olarak Parkinsonlu hastalarda subtalamik nükleus stimülasyonunun primer motor korteksin kan akımını istirahat esnasında dü ürdü ünü belirtmi lerdir. Deneysel veri için belirtilebilecek tek çalı ma ise Benazzouz ve ark., (97) tarafından yapılmı ve buna göre subtalamik nükleus stimülasyonu yapılan parkinsonlu sıçanlarda, artmı subtalamik nükleus ve substantia nigra pars retikülata aktivitesi normale dönmü ve hatta substantia nigra pars retikülata kısmen azalmı tır. Lezyonlu olgularda PET çalı malarında kortikal glukoz ve oksijen kullanımında tespit edilen artı bizim çalı mamızda ortaya çıkan sitokrom oksidaz aktivitesindeki azalmayla çeli kili görülmektedir. Ancak PET gerçek zamanlı bir fonksiyon göstergesi olup , dokudaki kronik de i ikli in belirtisi olan sitokrom oksidaz aktivitesi ile birebir örtü meyebilir. Sonuç olarak beklenen (subtalamik nükleus lezyonu veya stimulasyonu yapılan olgularda) parkinsonian semptomların ortaya çıkmasında rol oynadı ı dü ünülen substantia nigra pars retikülata, subtalamik nükleus, entopedunkular nükleusda aktivitenin tedavi öncesine göre azalması ve kortikal aktivitenin artarak düzelmesidir.

Bu çalı mada ise subtalamik nükleus lezyonu sonrasında, parkinsonlu sıçanlarda artmı motor korteks metabolik aktivitesi dü mü ve artmı substantia nigra pars retikülata metabolik aktivitesi daha da belirginle mi ; entopedunkular nükleus aktivitesi ise etkilenmemi tir. Di er bölgelerde ise belirgin fark saptanmamı tır. Daha önceden bahsedildi i gibi, günümüzde literatürde bahsedilen veriler ı ında, normal artlarda yapılan lezyonun, substantia nigra pars retikülata da metabolik aktiviteyi dü ürmesini ve de kortekste ise arttırmasını beklerdik. Bu sonucun bir kaç nedeni oldu u dü ünülebilir. Birincisi kullanılan yöntem sıçanların Parkinson olmasını sa lamamı tır diye dü ünülebilir. Ancak nissl ile yapılan boyamalarda substantia nigra pars kompakta da belirgin nöron kaybı dopaminerjik sistemin ba arıyla bozuldu unu ispatlamı tır. kinci olarak ; yapılan lezyonun topografik ve anatomik olarak yanlı yere yapılmı olması olasıdır ki bu da lezyon sonrası yapılan boyamalarda subtalamik nükleusta belirgin hücre ve sitokrom oksidaz aktivitesi kaybıyla aksi ispatlanmı bir hipotezdir. Bu durumda sorgulanması gereken sitokrom oksidaz aktivitesinin nasıl yorumlanaca ı olmalıdır. Daha öncede tartı ldi i üzere sitokrom oksidaz aktivitesinin anatomik olarak bazal ganglionlar ; fonksiyonel olarakda hareketin olu umunda nasıl yorumlanaca ı kesin olarak bilinmemektedir. Substantia nigra pars retikülata da lezyon sonrası aktivite artı ı neden meydana gelmi tir diye dü ündü ümüzde ise, bu artı substantia nigra pars retikülata sonrası yola ın lezyona ba lı bloke olması sonucu ortaya çıkan geri beslemelerin (feed back) sonucuda olabilir. Bu durumda söyleyebilece imiz tek ey subtalamik nükleus lezyonunun, substantia nigra pars retikülata ile korteks ve hareketin olu umunu etkileyen di er nukleuslar (pedunkulopontin, talamus, , substantia nigra pars kompakta,

retiküler formasyon, beyin sapı) arasındaki etkileşimi bozdu. Dolayısıyla ile indirekt yol verimli çalışmamakta ve parkinsonian bulgular düzelmektedir.

Parkinsonlu sıçanlarda ortaya çıkan artmış kortikal aktivitenin lezyon sonrası dümesi de benzer mekanizmayla, direkt fonksiyonun göstergesi olarak değil sadece bölgesel enerji ihtiyacının değişimi olarak yorumlanmıştır. Yani Parkinson motor korteksin enerji ihtiyacını arttırabilir, lezyon da bunu tersine çevirebilir.

6 - SONUÇLAR

- 1- ntraventriküler 6 – OHDA uygulamasıyla gerçekte tirilen Parkinson modelinin sıçanlarda güvenilir ve yinelenebilir bir yöntem oldu u gösterilmi tir.
- 2- Parkinsonda indirekt yolun en önemli parçası olan subtalamik nukleus , bazal ganglionun output merkezi olan globus pallidus internus (entopedunkular nukleus), substantia nigra pars retikulatada ve motor kortekste aktivite artımı tesbit edilmi tir.
- 3- Lezyon yapılan deneklerde en belirgin bulgu substantia nigra pars retikulatada sitokrom oksidaz aktivitesinde artı , motor korteks aktivitesinde dü ü tür.

7 - KAYNAKLAR

1. Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008 Apr;79(4):368-76.
2. Clarke CE. Parkinson's disease. *BMJ*. 2007 Sep 1;335(7617):441-5.
3. Nadeau SE. Parkinson's disease. *J Am Geriatr Soc*. 1997 Feb;45(2):233-40.
4. Galvan A, Wichmann T. Pathophysiology of parkinsonism. *Clin Neurophysiol*. 2008 Jul;119(7):1459-74. Epub 2008 May 7.
5. Wichmann T, DeLong MR. Basal ganglia discharge abnormalities in Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl*. 2006;(70):21-5.
6. Mehler-Wex C, Riederer P, Gerlach M. Dopaminergic dysbalance in distinct basal ganglia neurocircuits: implications for the pathophysiology of Parkinson's disease, schizophrenia and attention deficit hyperactivity disorder. *Neurotox Res*. 2006 Dec;10(3-4):167-79.
7. Herrero MT, Barcia C, Navarro JM. Functional anatomy of thalamus and basal anglia. *Childs Nerv Syst*. 2002 Aug;18(8):386-404.
8. Błaszczyk JW. Motor deficiency in Parkinson's disease. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 1998;58(1):79-93.
9. Rivlin-Etzion M, Marmor O, Heimer G, Raz A, Nini A, Bergman H. Basal ganglia oscillations and pathophysiology of movement disorders. *Curr Opin Neurobiol*. 2006 Dec;16(6):629-37.
10. Gibb WR. Functional neuropathology in Parkinson's disease. *Eur Neurol*. 1997;38 Suppl 2:21-5.

11. Wichmann T, DeLong MR. Pathophysiology of Parkinson's disease: the MPTP primate model of the human disorder. *Ann N Y Acad Sci.* 2003 Jun;991:199-213.
12. Bergman H, Deuschl G. Pathophysiology of Parkinson's disease: from clinical neurology to basic neuroscience and back. *Mov Disord.* 2002;17 Suppl 3:S28-40.
13. Gatev P, Darbin O, Wichmann T. Oscillations in the basal ganglia under normal conditions and in movement disorders. *Mov Disord.* 2006 Oct;21(10):1566-77.
14. Brown P. Oscillatory nature of human basal ganglia activity: relationship to the pathophysiology of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2003 Apr;18(4):357-63.
15. Contreras-Vidal JL, Stelmach GE. A neural model of basal ganglia-thalamocortical relations in normal and parkinsonian movement. *Biol Cybern.* 1995 Oct;73(5):467-76.
16. Blandini F, Nappi G, Tassorelli C, Martignoni E. Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 2000 Sep;62(1):63-88.
17. Obeso JA, Rodriguez-Oroz M, Marin C, Alonso F, Zamarbide I, Lanciego JL, Rodriguez-Diaz M. The origin of motor fluctuations in Parkinson's disease: importance of dopaminergic innervation and basal ganglia circuits. *Neurology.* 2004 Jan 13;62(1 Suppl 1):S17-30.
18. Belluscio MA, Riquelme LA, Murer MG. Striatal dysfunction increases basal ganglia output during motor cortex activation in parkinsonian rats. *Eur J Neurosci.* 2007 May;25(9):2791-804.

19. Poewe W. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Eur J Neurol*. 2008 Apr;15 Suppl 1:14-20.
20. Poewe W. Dysautonomia and cognitive dysfunction in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2007 Sep;22 Suppl 17:S374-8.
21. Bhidayasiri R, Truong DD. Motor complications in Parkinson disease: clinical manifestations and management. *J Neurol Sci*. 2008 Mar 15;266(1-2):204-15.
22. Rao SS, Hofmann LA, Shakil A. Parkinson's disease: diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*. 2006 Dec 15;74(12):2046-54.
23. Imke S. Parkinson's disease. More than meets the eye. *Adv Nurse Pract*. 2003 Sep;11(9):42-51.
24. Vidailhet M. [Parkinson's disease. Physiopathology, diagnosis, evolution, treatment] *Rev Prat*. 1999 Nov 1;49(17):1915-21.
25. Nutt JG, Wooten GF. Clinical practice. Diagnosis and initial management of Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2005 Sep 8;353(10):1021-7.
26. Worth PF. A perspective on the current issues in the diagnosis of Parkinson's disease. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2007 May;68(5):S6, S8-11, S14-5.
27. Thomas B, Beal MF. Parkinson's disease. *Hum Mol Genet*. 2007 Oct 15;16 Spec No. 2:R183-94.
28. Mena MA, Rodriguez-Navarro JA, Ros R, de Yebenes JG. On the pathogenesis and neuroprotective treatment of Parkinson disease: what have we learned from the genetic forms of this disease? *Curr Med Chem*. 2008;15(23):2305-20.
29. Lev N, Melamed E. Heredity in Parkinson's disease: new findings. *Isr Med Assoc J*. 2001 Jun;3(6):435-8.

30. Abbas N, Lücking CB, Ricard S, Dürr A, Bonifati V, De Michele G, Bouley S, Vaughan JR, Gasser T, Marconi R, Broussolle E, Brefel-Courbon C, Harhangi BS, Oostra BA, Fabrizio E, Böhme GA, Pradier L, Wood NW, Filla A, Meo G, Deneffe P, Agid Y, Brice A. A wide variety of mutations in the parkin gene are responsible for autosomal recessive parkinsonism in Europe. French Parkinson's Disease Genetics Study Group and the European Consortium on Genetic Susceptibility in Parkinson's Disease. *Hum Mol Genet.* 1999 Apr;8(4):567-74.
31. Hattori N, Mizuno Y. Pathogenetic mechanisms of parkin in Parkinson's disease. *Lancet.* 2004 Aug 21-27;364(9435):722-4.
32. Hattori N, Shimura H, Kubo S, Wang M, Shimizu N, Tanaka K, Mizuno Y. Importance of familial Parkinson's disease and parkinsonism to the understanding of nigral degeneration in sporadic Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl.* 2000;(60):101-16.
33. Gasser T. Genetics of Parkinson's disease. *J Neurol.* 2001 Oct;248(10):833-40.
34. Mizuno Y, Hattori N, Mori H, Suzuki T, Tanaka K. Parkin and Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol.* 2001 Aug;14(4):477-82.
35. von Coelln R, Dawson VL, Dawson TM. Parkin-associated Parkinson's disease. *Cell Tissue Res.* 2004 Oct;318(1):175-84.
36. Chien HF, Rohé CF, Costa MD, Breedveld GJ, Oostra BA, Barbosa ER, Bonifati V. Early-onset Parkinson's disease caused by a novel parkin mutation in a genetic isolate from north-eastern Brazil. *Neurogenetics.* 2006 Mar;7(1):13-9.

37. Gasser T. Genetics of Parkinson's disease. *Clin Genet.* 1998 Oct;54(4):259-65.
38. Thrash B, Uthayathas S, Karuppagounder SS, Suppiramaniam V, Dhanasekaran M. Paraquat and maneb induced neurotoxicity. *Proc West Pharmacol Soc.* 2007;50:31-42.
39. Thiruchelvam M, McCormack A, Richfield EK, Baggs RB, Tank AW, Di Monte DA, Cory-Slechta DA. Age-related irreversible progressive nigrostriatal dopaminergic neurotoxicity in the paraquat and maneb model of the Parkinson's disease phenotype. *Eur J Neurosci.* 2003 Aug;18(3):589-600.
40. Cicchetti F, Lapointe N, Roberge-Tremblay A, Saint-Pierre M, Jimenez L, Ficke BW, Gross RE. Systemic exposure to paraquat and maneb models early Parkinson's disease in young adult rats. *Neurobiol Dis.* 2005 Nov;20(2):360-71.
41. Thiruchelvam M, Richfield EK, Goodman BM, Baggs RB, Cory-Slechta DA. Developmental exposure to the pesticides paraquat and maneb and the Parkinson's disease phenotype. *Neurotoxicology.* 2002 Oct;23(4-5):621-33.
42. McCormack AL, Thiruchelvam M, Manning-Bog AB, Thiffault C, Langston JW, Cory-Slechta DA, Di Monte DA. Environmental risk factors and Parkinson's disease: selective degeneration of nigral dopaminergic neurons caused by the herbicide paraquat. *Neurobiol Dis.* 2002 Jul;10(2):119-27.
43. McCormack AL, Atienza JG, Johnston LC, Andersen JK, Vu S, Di Monte DA. Role of oxidative stress in paraquat-induced dopaminergic cell degeneration. *J Neurochem.* 2005 May;93(4):1030-7.

44. Samantaray S, Ray SK, Banik NL. Calpain as a potential therapeutic target in Parkinson's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2008 Jun;7(3):305-12.
45. Gallagher DA, Schrag A. Impact of newer pharmacological treatments on quality of life in patients with Parkinson's disease. *CNS Drugs*. 2008;22(7):563-86.
46. Stowe RL, Ives NJ, Clarke C, van Hilten J, Ferreira J, Hawker RJ, Shah L, Wheatley K, Gray R. Dopamine agonist therapy in early Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008 Apr 16;(2):CD006564.
47. Factor SA. Current status of symptomatic medical therapy in Parkinson's disease. *Neurotherapeutics*. 2008 Apr;5(2):164-80.
48. Coelho M, Ferreira J, Rosa M, Sampaio C. Treatment options for non-motor symptoms in late-stage Parkinson's disease. *Expert Opin Pharmacother*. 2008 Mar;9(4):523-35.
49. Stacy M, Galbreath A. Optimizing long-term therapy for Parkinson disease: levodopa, dopamine agonists, and treatment-associated dyskinesia. *Clin Neuropharmacol*. 2008 Jan-Feb;31(1):51-6.
50. Deane KH, Spieker S, Clarke CE. Catechol-O-methyltransferase inhibitors versus active comparators for levodopa-induced complications in Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004 Oct 18;(4):CD004553.
51. Jankovic J, Stacy M. Medical management of levodopa-associated motor complications in patients with Parkinson's disease. *CNS Drugs*. 2007;21(8):677-92.

52. Gottwald MD, Bainbridge JL, Dowling GA, Aminoff MJ, Alldredge BK. New pharmacotherapy for Parkinson's disease. *Ann Pharmacother.* 1997 Oct;31(10):1205-17.
53. Deleu D, Northway MG, Hanssens Y. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of drugs used in the treatment of Parkinson's disease. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41(4):261-309.
54. Romrell J, Fernandez HH, Okun MS. Rationale for current therapies in Parkinson's disease. *Expert Opin Pharmacother.* 2003 Oct;4(10):1747-61.
55. Macleod AD, Counsell CE, Ives N, Stowe R. Monoamine oxidase B inhibitors for early Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005 Jul 20;(3):CD004898.
56. Tuite P, Riss J. Recent developments in the pharmacological treatment of Parkinson's disease. *Expert Opin Investig Drugs.* 2003 Aug;12(8):1335-52.
57. Lees A. Alternatives to levodopa in the initial treatment of early Parkinson's disease. *Drugs Aging.* 2005;22(9):731-40.
58. Hasegawa K. [The new Parkinson's disease drugs] *Nippon Rinsho.* 2000 Oct;58(10):2066-71.
59. Najib J. Entacapone: a catechol-O-methyltransferase inhibitor for the adjunctive treatment of Parkinson's disease. *Clin Ther.* 2001 Jun;23(6):802-32.
60. Leegwater-Kim J, Waters C. Role of tolcapone in the treatment of Parkinson's disease. *Expert Rev Neurother.* 2007 Dec;7(12):1649-57.
61. Chen JJ, Swope DM. Pharmacotherapy for Parkinson's disease. *Pharmacotherapy.* 2007 Dec;27(12 Pt 2):161S-173S.

62. Nomoto M, Iwata S, Kaseda S. [Pharmacological treatments of Parkinson's disease] *Nippon Yakurigaku Zasshi*. 2001 Feb;117(2):111-22.
63. Waters C. Catechol-O-methyltransferase (COMT) inhibitors in Parkinson's disease. *J Am Geriatr Soc*. 2000 Jun;48(6):692-8.
64. Rezai AR, Machado AG, Deogaonkar M, Azmi H, Kubu C, Boulis NM. Surgery for movement disorders. *Neurosurgery*. 2008 Feb;62 Suppl 2:809-39.
65. Toft M, Lilleeng B, Ramm-Pettersen J, Røste GK, Pedersen L, Skogseid IM, Dietrichs E. [Treatment of movement disorders with deep brain stimulation] *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2008 Sep 11;128(17):1972-6.
66. Krack P. [Deep brain stimulation in Parkinson disease] *Rev Neurol (Paris)*. 2008 Apr;164 Spec No 2:F89-93.
67. Vitek JL. Deep brain stimulation: how does it work? *Cleve Clin J Med*. 2008 Mar;75 Suppl 2:S59-65.
68. Temel Y. Subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease: the other side of the medallion. *Exp Neurol*. 2008 Jun;211(2):321-3.
69. Limousin P, Martinez-Torres I. Deep brain stimulation for Parkinson's disease. *Neurotherapeutics*. 2008 Apr;5(2):309-19.
70. Yu H, Neimat JS. The treatment of movement disorders by deep brain stimulation. *Neurotherapeutics*. 2008 Jan;5(1):26-36.
71. Kern DS, Kumar R. Deep brain stimulation. *Neurologist*. 2007 Sep;13(5):237-52.
72. Voges J, Koulousakis A, Sturm V. Deep brain stimulation for Parkinson's disease. *Acta Neurochir Suppl*. 2007;97(Pt 2):171-84.
73. Volkmann J. Update on surgery for Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol*. 2007 Aug;20(4):465-9.

74. Su PC, Tseng HM, Liu HM, Yen RF, Liou HH. Treatment of advanced Parkinson's disease by subthalamotomy: one-year results. *Mov Disord.* 2003 May;18(5):531-8.
75. Su PC, Tseng HM, Liu HM, Yen RF, Liou HH. Subthalamotomy for advanced Parkinson disease. *J Neurosurg.* 2002 Sep;97(3):598-606.
76. Tseng HM, Su PC, Liu HM, Liou HH, Yen RF. Bilateral subthalamotomy for advanced Parkinson disease. *Surg Neurol.* 2007;68 Suppl 1:S43-51.
77. Patel NK, Heywood P, O'Sullivan K, McCarter R, Love S, Gill SS. Unilateral subthalamotomy in the treatment of Parkinson's disease. *Brain.* 2003 May;126(Pt 5):1136-45.
78. Alvarez L, Macias R, Lopez G, Alvarez E, Pavon N, Rodriguez-Oroz MC, Juncos JL, Maragoto C, Guridi J, Litvan I, Tolosa ES, Koller W, Vitek J, DeLong MR, Obeso JA. Bilateral subthalamotomy in Parkinson's disease: initial and long-term response. *Brain.* 2005 Mar;128(Pt 3):570-83.
79. Vilela Filho O, Silva DJ, Souza HA, Cavalcante JE, Sousa JT, Ferraz FP, Silva LG, Santos LF. Stereotactic subthalamic nucleus lesioning for the treatment of Parkinson's disease. *Stereotact Funct Neurosurg.* 2001;77(1-4):79-86.
80. Alvarez L, Macias R, Guridi J, Lopez G, Alvarez E, Maragoto C, Teijeiro J, Torres A, Pavon N, Rodriguez-Oroz MC, Ochoa L, Hetherington H, Juncos J, DeLong MR, Obeso JA. Dorsal subthalamotomy for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2001 Jan;16(1):72-8.
81. Gross RE. What happened to posteroventral pallidotomy for Parkinson's disease and dystonia? *Neurotherapeutics.* 2008 Apr;5(2):281-93.

82. Zaidel A, Moran A, Marjan G, Bergman H, Israel Z. Prior pallidotomy reduces and modifies neuronal activity in the subthalamic nucleus of Parkinson's disease patients. *Eur J Neurosci*. 2008 Jan;27(2):483-91.
83. Llumiguano C, Dóczy T, Baths I. [Microelectrode guided stereotactic pallidotomy and pallido-thalamotomy for treatment of Parkinson's disease] *Neurocirugia (Astur)*. 2006 Oct;17(5):420-32.
84. Esselink RA, de Bie RM, de Haan RJ, Steur EN, Beute GN, Portman AT, Schuurman PR, Bosch DA, Speelman JD. Unilateral pallidotomy versus bilateral subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease: one year follow-up of a randomised observer-blind multicentre trial. *Acta Neurochir (Wien)*. 2006 Dec;148(12):1247-55.
85. Blomstedt P, Hariz GM, Hariz MI. Pallidotomy versus pallidal stimulation. *Parkinsonism Relat Disord*. 2006 Jun;12(5):296-301.
86. Harvey BK, Wang Y, Hoffer BJ. Transgenic rodent models of Parkinson's disease. *Acta Neurochir Suppl*. 2008;101:89-92.
87. Takahashi R. [Animal models for familial Parkinson's disease] *Rinsho Shinkeigaku*. 2007 Nov;47(11):938-40.
88. Fleming SM, Fernagut PO, Chesselet MF. Genetic mouse models of parkinsonism: strengths and limitations. *NeuroRx*. 2005 Jul;2(3):495-503.
89. Schober A. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP. *Cell Tissue Res*. 2004 Oct;318(1):215-24.
90. Uversky VN. Neurotoxicant-induced animal models of Parkinson's disease: understanding the role of rotenone, maneb and paraquat in neurodegeneration. *Cell Tissue Res*. 2004 Oct;318(1):225-41.

91. Orth M, Tabrizi SJ. Models of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2003 Jul;18(7):729-37.
92. Tolwani RJ, Jakowec MW, Petzinger GM, Green S, Waggle K. Experimental models of Parkinson's disease: insights from many models. *Lab Anim Sci.* 1999 Aug;49(4):363-71.
93. Hevner RF, Liu S, Wong-Riley MT. A metabolic map of cytochrome oxidase in the rat brain: histochemical, densitometric and biochemical studies. *Neuroscience.* 1995 Mar;65(2):313-42.
94. Di Rocco RJ, Kageyama GH, Wong-Riley MT. The relationship between CNS metabolism and cytoarchitecture: a review of ¹⁴C-deoxyglucose studies with correlation to cytochrome oxidase histochemistry. *Comput Med Imaging Graph.* 1989 Jan-Feb;13(1):81-92.
95. Erecska M, Silver IA. ATP and brain function. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1989 Feb;9(1):2-19.
96. Wong-Riley MT. Cytochrome oxidase: an endogenous metabolic marker for neuronal activity. *Trends Neurosci.* 1989 Mar;12(3):94-101.
97. Benazzouz A, Tai CH, Meissner W, Bioulac B, Bezard E, Gross C. High-frequency stimulation of both zona incerta and subthalamic nucleus induces a similar normalization of basal ganglia metabolic activity in experimental parkinsonism. *FASEB J.* 2004 Mar;18(3):528-30.
98. Breyse N, Amalric M, Salin P. Metabotropic glutamate 5 receptor blockade alleviates akinesia by normalizing activity of selective basal-ganglia structures in parkinsonian rats. *J Neurosci.* 2003 Sep 10;23(23):8302-9.
99. Porter RH, Greene JG, Higgins DS Jr, Greenamyre JT. Polysynaptic regulation of glutamate receptors and mitochondrial enzyme activities in the

- basal ganglia of rats with unilateral dopamine depletion. *J Neurosci.* 1994 Nov;14(11 Pt 2):7192-9.
100. Blandini F, Nappi G, Greenamyre JT. Subthalamic infusion of an NMDA antagonist prevents basal ganglia metabolic changes and nigral degeneration in a rodent model of Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 2001 Apr;49(4):525-9.
101. Salin P, Manrique C, Forni C, Kerkerian-Le Goff L. High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus selectively reverses dopamine denervation-induced cellular defects in the output structures of the basal ganglia in the rat. *J Neurosci.* 2002 Jun 15;22(12):5137-48.
102. Nakao N, Ogura M, Nakai K, Itakura T. Intrastratial mesencephalic grafts affect neuronal activity in basal ganglia nuclei and their target structures in a rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci.* 1998 Mar 1;18(5):1806-17.
103. Kaya AH, Vlamings R, Tan S, Lim LW, Magill PJ, Steinbusch HW, Visser-Vandewalle V, Sharp T, Temel Y. Increased electrical and metabolic activity in the dorsal raphe nucleus of Parkinsonian rats. *Brain Res.* 2008 Jul 24;1221:93-7.
104. Brooks DJ. Positron emission tomography studies in movement disorders. *Neurosurg Clin N Am.* 1998 Apr;9(2):263-82.
105. Calne DB, Snow BJ. PET imaging in Parkinsonism. *Adv Neurol.* 1993;60:484-7.
106. Su PC, Ma Y, Fukuda M, Mentis MJ, Tseng HM, Yen RF, Liu HM, Moeller JR, Eidelberg D. Metabolic changes following subthalamotomy for advanced Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 2001 Oct;50(4):514-20.
107. Ceballos-Baumann AO, Boecker H, Bartenstein P, von Falkenhayn I, Riescher H, Conrad B, Moringlane JR, Alesch F. A positron emission

tomographic study of subthalamic nucleus stimulation in Parkinson disease:
enhanced movement-related activity of motor-association cortex and
decreased motor cortex resting activity. Arch Neurol. 1999 Aug;56(8):997-
1003.