

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

PARKINSON HASTALIĞI OLUŞTURULAN SIÇANLARDA GLOBUS PALLIDUS  
İNTERNUS (ENTOPEDUNKULAR NÜKLEUS) LEZYONU SONRASI BEYİN  
METABOLİK AKTİVİTESİNDE OLUŞAN DEĞİŞİMLER

UZMANLIK TEZİ  
Dr.Zafer Sabancılar

SAMSUN 2008

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

PARKİNSON HASTALIĞI OLAN SIĞANLARDA GLOBUS PALLIDUS  
İNTERNUS (ENTOPEDUNKULAR NÜKLEUS) LEZYONU SONRASI BEYİN  
METABOLİK AKTİVİTESİNDE OLAN DEĞİŞİKLİKLER

UZMANLIK TEZİ  
Dr. ZAFER SABANCILAR

TEZ DANIŞMANI  
Yard. Doç. Dr. ADNAN DAĞÇINAR

SAMSUN 2008

## TE EKKÜR

Uzmanlık e itimim süresince, yeti memde katkıları olan de erli hocalarıma, birlikte çalı maktan mutluluk duydu um asistan arkadaşlarıma, 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 LİSTESİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 1:</b> Sığan beyninin anatomik bölgeleri	25
<b>Tablo 2:</b> Histolojik incelemeler için kullanılan nissl boyama yöntemi	30
<b>Tablo 3:</b> Stereolojik sayım i leminin gerçekte tirildi i stereolojik analiz sisteminde kullanılan aletler	32
<b>Tablo 4:</b> Sitokrom oksidaz boyamasında inkübasyon için kullanılan solüsyon içerikleri ve oranları	35
<b>Tablo 5:</b> Sitokrom oksidaz boyamasında fiksasyon a aması için kullanılan solüsyon ( NBF: neutral buffered formaldehyde ) içerikleri ve oranları	36
<b>Tablo 6:</b> Sitokrom oksidaz boyamasında dehidratasyon a aması için kullanılan solüsyon içerikleri ve oranları	37
<b>Tablo 7:</b> 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 başının sterotaksi aleti ile tesbit edilmesi ve farklı açılardan görünümü	18
ekil 4: Cerrahi öncesi insizyon sahasının antiseptik amaçlı boyama işlemi	19
ekil 5 : a ; 15 nolu bistüri ile cilt insizyonu, b : retrakte edilmiş cilt görünümü	19
ekil 6: insizyon sonrası ve retrakte edilmiş galea	20
ekil 7 : Bregma referans noktası alınarak pariyetal kemiğe burr hole açılmasının yakından görünümü	20
ekil 8 : a, b : Bregma referans noktası alınarak pariyetal kemiğe burr hole açılması c : tek taraflı ; d : iki taraflı burr hole görünümü	21
ekil 9 : 5 ve 10 mikrolitrelik hamilton iğneleri ve ilaçlar	21
ekil 10 : a, b, c : Bregma noktasına göre koordinat hesaplama d – e : Her iki burr holeden lateral ventrikül içine ve lezyon yapmak için hedeflenen koordinatlara hamilton iğnesiyle 6 – OHDA ve kainik asit enjeksiyonu	22
ekil 11 : Cerrahi işlem 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

	<u>Sayfa No</u>
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 Lezyon 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 entopedunkular nukleusta nöronal hücre kaybının nissl boyama yöntemi ile gösterilmesi	46



**Sayfa No**

ekil 33: Nissl boyama sonrası dopaminerjik nöron

46

kaybının grafiksel kar ıla tırılması

## ÖZET

**Amaç :** Parkinson hastalığı ında 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 düzeldi i klinik olarak gözlenmektedir. Globus pallidus internaya yapılan cerrahi müdahaleler Parkinson hastalarında motor bulguların düzelmesini sağlamakta ancak mekanizması tam bilinmemektedir.

Bu çalışmada deneysel Parkinson modelinde bazal ganglia ve kortikal metabolik aktivitenin nasıl etkilendi i ve pallidotominin bu metabolik aktiviteyi ne yönde etkiledi i araştırıldı.

**Materyal ve Metod :** SHAM, Parkinson ve Parkinson ile lezyon ( iki taraflı pallidotomi ) 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 de erlerine göre derecelendirildi ve de erler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

**Bulgular :** Parkinson grubu ile SHAM grubu karşılaştırıldı ında, subtalamik nükleus, entopedünküler nükleus, substantia nigra pars retikülata ve motor kortekste sitokrom oksidaz aktivitesinin istatistik olarak anlamlı şekilde

artımı oldu u görüldü. Parkinson grubu ile lezyon grubu kar ıla tırıldı nda ise substantia nigra pars retikülatada istatistiksel olarak belirgin sitokrom oksidaz aktivitesi artı ı, motor kortekste ve substansia nigra pars kompaktada aktivite azalması saptandı.

**Sonuçlar :** Bu çalı madaki bulgulara göre, pallidotomi, substantia nigra pars retikülatanın Parkinson' da artımı olan metabolik aktivitesini daha da fazlala tırmakta, motor kortekste artımı olan aktiviteyi ve substantia nigra pars kompaktada ki metabolik aktiviteyi azaltmaktadır.

**Anahtar Sözcükler :** Globus pallidus internus ( entopedunkular nükleus ), sitokrom oksidaz, metabolik aktivite, nissl, substantia nigra pars kompakta.

## ABSTRACT

**Objective :** 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. Globus pallidus interna ( entopeduncular nucleus in rats ) 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 pallidotomy 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 pallidotomy ) were included in the study. Nigral cell loss was achieved with intraventricular stereotactic injection of 6 - Hydroxydopamine, and the pallidotomy 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 and substantia nigra pars compacta were encountered.

**Conclusion :** According to findings of this study, in Parkinson, pallidotomy aggravates the increased metabolic activity of substantia nigra pars reticulata, but lessens the increased metabolic activity of the motor cortex and decreased metabolic activity of substantia nigra pars compacta

**Key Words :** Globus pallidus interna ( entopeduncular nükleus ), cytochrome oxidase, metabolic activity, substantia nigra pars compacta.

## 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 a amada 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 araştırmanın amacı cerrahi işlemler sırasında bazal ganglionlarda ve beyin ilgili bölümlerinde ortaya çıkan metabolik değişiklikleri de erlendirmek ve bu sonuçlarla cerrahi tedavi metotlarından biri olan pallidotominin bu metabolik aktivite değişikliklerini nasıl etkiledi i hakkında fikir sahibi olmaktır.

Proje benzer çalışmalarda ortaya çıkan bulgulara yenilerini eklemek amacıyla gerçekleştirildi. Beynin işleyi 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 bağlantılı olduğu bazal ganglionlar, kortikal yapılar ve subkortikal oluşumlarda da kalıcı değişikliklere yol açmaktadır.

Günümüzde kullanılan tıbbi veya cerrahi tedavilerin pek çoğu hastalının farklı semptomları üzerine yönelmiştir. Buna karşın bütün bulguları birden düzeltebilecek tek bir tedavi yöntemi henüz bilinmemektedir. Tedaviler süreci durdurmamakta ancak yavaşlamasına yardımcı olmaktadır. Bu kadar komplike bir mekanizmanın tekrar ilerliyenine kavuşturulabilmesi ancak mekanizmanın tüm boyutlarıyla anlaşılmasıyla mümkün olabilir.

İmdiye kadar bu amaçla pek çok çalışma yapılmış olup bunlar beynin farklı yerlerindeki patolojik süreçleri ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmadaki amaç ise Parkinson hastalığı olan sıçanlarda globus pallidus internaya ( sıçanlarda entopeduncular nukleus ) yapılacak lezyonun bazal ganglionlarda ve kortikal dokularda ne gibi metabolik değişikliklere yol açtığını gözlemlemektir. Sonuçlar özellikle cerrahi tedavinin etkinliği hakkında bize bilgi verebilir.

Bu amaçla yapılan ara tırma protokolünde, deney hayvanlarının ( sıçan ) sıçan sterotaksi cihazı yardımıyla ventrikül içine verilecek 6 - OHDA sayesinde Parkinson hastalığına yakalanması planlanmıştır. Bu yöntem literatürden de anlaşılacağı üzere geçerliliği kanıtlanmış ve güvenilir bir metottur. 6 - OHDA verilen grubun bir kısmında yine sıçan sterotaksi cihazı yardımıyla ve kainik asit ile globus pallidusa lezyon yapıldı. Bu grup, sadece Parkinson' u olan sıçanlarla ve kontrol grubuyla karşılaştırılmak üzere bir ay yaşatıldı, daha sonra perfüze edildi. Substantianigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöron kaybını nispetle boyamasıyla ve bazal ganglionlardaki metabolik değişiklikler sitokrom oksidaz boyaması ile değerlendirildi. Bu çalışmada aynı lokalizasyonu ilgilendiren ve metabolik değişikliklerle alakalı ilk çalışma olması açısından da önem arz etmektedir.

6 – OHDA enjeksiyonu ile sıçanları Parkinson oluşturma modeli literatürde öteden beri kullanılan en güvenilir yöntemlerden birisidir. Literatür daha önceden, bu modelde sıçan beyinde ne gibi değişiklikler olduğunu açıklamaya çalışmıştır. Bununla birlikte sitokrom oksidaz aktivitesinin histolojik incelemelerle ortaya konması beyin metabolik aktivitesi hakkında bilgi vermektedir. Literatürde baktığımızda beyin sitokrom oksidaz aktivitesi her ne kadar Parkinson oluşturulan sıçanlarda bakılmış olsa da lezyon oluşturulduktan sonra aktivite konusunda çok doyurucu bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada Parkinsonlu sıçanlarda pallidotomi ( Entopedunkular nükleus lezyonu ) sonrasında sitokrom oksidaz aktivitesinde bölgesel değişiklikler kaydedilerek, rutin uygulanan cerrahinin ilave etkileri hakkında bilgi edinilmesi amaçlandı.



## 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 büyük oranda anlaşılabilmemi tir.

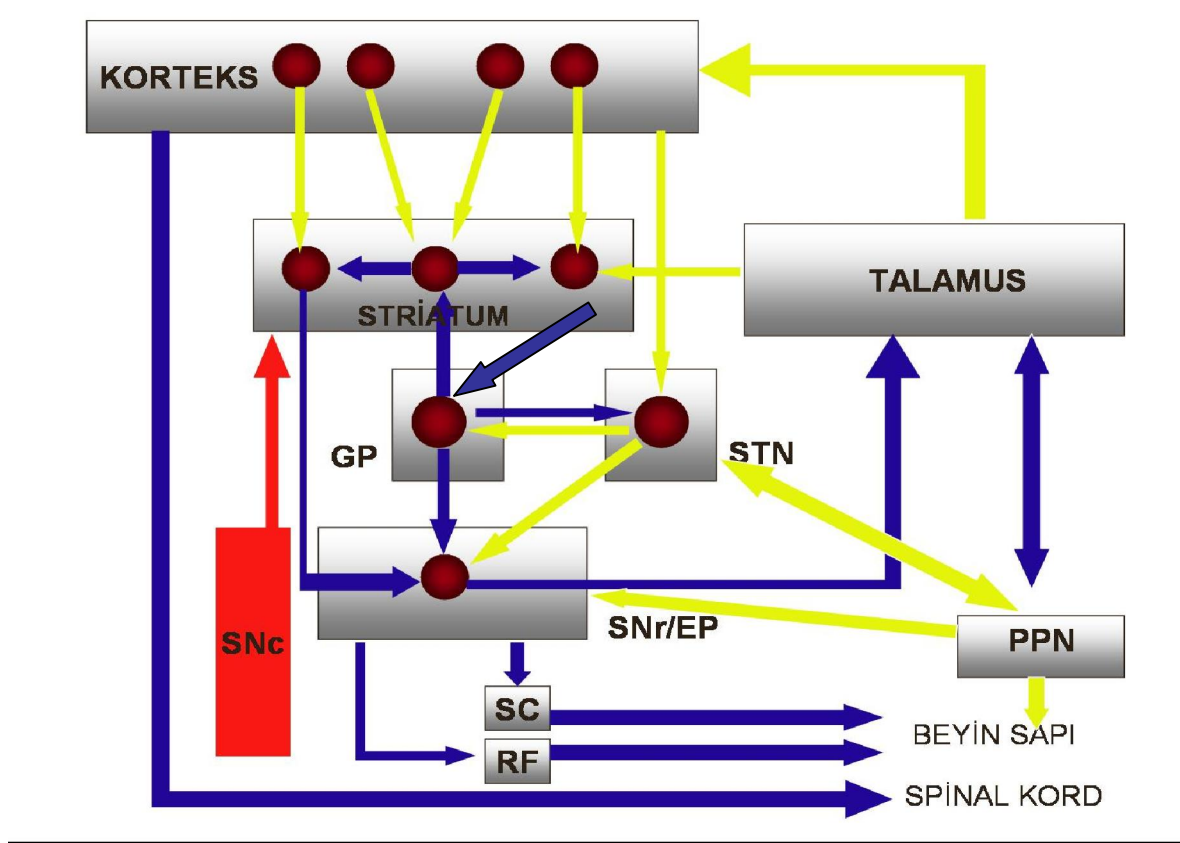
Parkinson hastalı ı santral sinir sisteminin ( SSS ) ilerleyici seyreden bir hastalı ıdır. Genellikle ileri ya grubu hastalarda görülmekle birlikte az sıklıkla genç hastalarda da rastlanabilmektedir. Kabaca atımı lı ya larda görölme sıklı ı her 300 bireyde 1 iken yetmi li ya larda her 100 bireyden 1 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 salgırlarlar. Dopamin, bazal ganglionlar üzerinde düzenleyici etkiye

sahip bir nörotransmitterdir. te Parkinson hastalığı nda 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 ). Di er bir önemli bulgu olarak, Parkinson hastalığı nda bazal ganglion, korteks ba ta 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 karşılıklı çalışarak normal istemli hareketin oluşmasını sağlarlar ( 4,10 ). Kortikal bilginin bazal gangliona girişi striatumdur ( Kaudat nükleus ve putamen ). Çıkışı 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 yolları etkileri ile i leme u rayan bu akım sonuç olarak bazal ganglionun çıkışı nükleusları ( output nükleusları ) olan globus pallidus interna ve substansia 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. Sonuçta hareket korteksten spinal motor yollara direkt olarak iletilmeden önce, bazal ganglion üzerinden süzülerek talamusa iletilip oradan tekrar kortekse alınır ve bu döngü istemli hareketin

olu madan 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, eksitatör yol glutamati kullanır. Ayrıntılı olarak ekil 1 de ematize edilmi bazal ganglion i leyi ine bakıldı ında, direkt yolun aktivasyonu bazal ganglion ı çıkı çekirdeklerinin talamus üzerindeki inhibitör etkisinin azalmasına ve de dolayısı ile artımı motor korteks aktivitesini ve istemli hareketlerin kolayla masını sa lar. Tam tersine indirekt yolun aktivasyonu ise, bazal ganglion ı 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 ve Parkinson hastalı ında meydana gelen dopamin eksikli i sonucunda indirekt yolun daha aktif hale geldi i dü ünülmektedir ( 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 ıalı ma yönteminde bazı açıklanamayan noktalar vardır. Sözelimi talamatomi Parkinson hastalı ında talamokortikal yolları harapladı ı halde, neden semptomların kötüle mesine de il de iyile mesine sebep olmaktadır. Ayrıca korteksten subtalamik nükleusa direkt uyarıcı yol da 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 ıalı makta, Parkinson hastalı ında ise dopamin yoklu u bu her iki yolun ara ba lantılarının devreye girerek senkronize ıalı 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 gelişme 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 iddetli hale getirir. 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 gevemesi görülmez.

Tremor belki Parkinson hastalığının en bilinen klinik bulgusudur fakat ilginç olarak hastaların dörtte birinde gözlenmez. Tremor, istemsiz olarak belli kas grubunda, genellikle o kas grubunun istirahatinde olu an 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 " makara sarma hareketi " tipinde tremor olu turabilir. Her ne kadar Parkinson tremoru istirahat tremoru olarak kabul edilse de hastaların bir

kısımında esansiyel tremorda oldu u gibi aksiyon tremoru da görülebilir. Hastaların yakla ık % 30' unda tremor ilk semptomdur ( 21,23,26 ).

Zamanla hastalarda fleksiyon postürü ve hareket esnasında dengesizlik, buna ba lı olarak dü meler meydana gelir. Freezing dedi imiz hareket esnasında durup adeta donakalma veya hareketi bir türlü ba latamamaya ba lı olarak duraksama meydana gelebilir.

Yutma güçlü ü ( Disfaji ) hastaların yarısını etkiler. Dil hareketinde yava lama altta yatan sebep olup, beslenme bozuklu u veya aspirasyon pnömonisine sebep olabilir. Larinks kaslarında yava lama, ses patlamalarına ve konu ma bozuklu una yol açar.

Depresyon Parkinson hastalı nda, hastaların en az % 40' ını etkileyen önemli bulgulardan biri olup, ya am kalitesini bozan en önemli etkenlerden bir tanesidir ( 19,20,26 ). Beraberinde uyku problemleri ve yorgunlu u getirir ve tremor ile bradikineziyi artırır. Bu hastalarda antidepresif tedavi hem bu bulguları azaltır hem de mental yönden hastaya fayda sa lar. Hastalı n seyrinde ço unlukla vizüel, daha az oranda da auditer halüsinasyonlar görülebilir ve bu halisünasyonlar antikolinerjik tedavi veya dopamin antagonistleri ile tedavi ile de ortaya çıkabilece i gibi, bu ilaçlar tarafından tetiklenebilirler.

Hastaların yakla ık 1 / 5' inde, ileri hastalık evresinde ciddi kognitif bozukluk gözlenir ( 19,26 ). Kısa süreli hafızada bozulma, konfüzyon, karar verme ve sebep sonuç ili kisini de erlendirmede bozukluk ve vizüel halüsinasyonlar demansif tablonun en önemli bulgularıdır. Azalmı koku duyusu da hastalı a e lik 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 konusunda üpheler mevcuttur. Sonuç olarak 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, hastalığa yakalanma riski % 5 oranında daha fazla bulunmuştur ( 27,29 ). Her ne kadar

genetik sebepli Parkinson hastalığı hastaların sadece % 5 ' ini oluştursa da yapılan ara tırmalarda Parkinson hastalığı ile ilgili birtakım genler suçlanmıştır. Bu genler kısaca alfa nüklein ( PARK 1 ), parkin ( PARK 2 ), ubikitin karboksiterminal hidrolaz - L1 ( UCHL1 ), DJ- 1 ( Park 7 ) ve NR4A2 dir (28,30,31,32,34,36 ). Sözgelimi, bir talyan ailede alfa sinüklein geninde mutasyona bağlı otozomal dominant geçişli Parkinson hastalığı tariflenmiştir, bir Japon ailede de parkin geni ile ilişkili juvenil tip Parkinson hastalığı tariflenmiştir. Ayrıca Parkinson hastalığı olan hastaların sinir hücrelerinde tespit edilen Lewy cisimciklerinin yoğun miktarda alfa sinüklein içermesi de ilginçtir (27,29 ).

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

## 2.5 - Medikal tedavi

Henüz Parkinson hastalığının progresyonunu engelleyen veya geciktiren bir ilaç tedavisi yoktur. Dolayısıyla tedavi, hastalığın semptomlarına yönelik uygulanmaktadır ( 44,63 ).

Levodopa Parkinson hastalığında kullanılan en önemli ilaç olup, dopamin prekürsörüdür. Periferik dopa dekarboksilaz inhibitörleri ile kombine edildiğinde dopaminin periferik yıkımının engellenmesi ve santral sinir sistemine etki edebilmesi sağlanmıştır. Levodopanın 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 hastalığında kullanılan antikolinergik ilaçlardır. Etki mekanizmaları sinir hücresi üzerinde uyarıcı etkiye ait asetilkolinin etkisini azaltarak, inhibitör etkiye sahip dopaminin azalması ile ortaya çıkan nörotransmitter dengesizliğini düzeltmektedir. 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 hastalığında kullanılmaktadır ve etki mekanizmasının glutamat inhibisyonu yaparak olduğunu düşünülmektedir.

## 2.6 - Cerrahi Tedavi

Parkinson hastalığında maalesef cerrahi tedavi de sadece semptomlara yönelik olup, hastalığın progresyonunu önleyici bir etkiye sahip değildir. Parkinson hastalığında fazla aktivite olduğu düşünülen üç ayrı anatomik bölgenin cerrahi müdahale ile aktivitesini azaltmakla, hastalığın bulgularında düzelme sağlanmaya çalışılmış ve bu girişimlerden anlamlı iyileşmeler sağlanmıştır (64,85). Bu bölgeler sırası ile talamus, globus pallidus ve subtalamik nükleuslardır. Bu bölgelerden birinin inaktivasyonu için 2 farklı yöntem kullanılmıştır. Bunlardan bir tanesinde, o bölgeye ablasyon yapılarak aktivitesi ortadan kaldırılmaktadır, diğ erinde ise yüksek frekansta elektrik uyarısı sağlanarak, yani o bölgeye depolarizasyon bloğu yaparak aktivitesi durdurulmaktadır. İlk bahsedilen yöntemde, o bölgeye uzatılan bir prob ucundan elektrik akımı geçirilerek ısı etkisi ile doku hasarı meydana getirilir. Diğ erinde ise o bölgeye kalıcı bir elektrot yerleştirilip, bu elektrotun diğ er ucu

cilt altında bir pile ba lanarak, sürekli elektrot ucuna yüksek frekansta elektrik uyarısı yapılır. Bu ikinci yöntem derin beyin stimülasyonu denir. Ablasyon yöntemi kalıcı lezyon yaparken, derin beyin stimülasyonunda bu hasar olmadığı gibi, etki stimülasyon durduruldu u anda kalkar. Ayrıca pil dı arıdan ayarlanabilir ve uyarı seviyesi artırılıp 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 ventrointermedial 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. Talamatomi, rijidite, hipokinezi ve bradikineziye pek etki etmez. Lezyon tremorun belirgin oldu u tarafın kontralateraline yapılır ve bilateral talamotomi dizatri riskinin fazla olması nedeni ile pek tercih edilmez. Talamik stimülasyon da talamatomi ile aynı etkinli e sahiptir ( 64,67 ). Talamatomiye 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 arttırılamayan 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 iyile me görülmektedir. Ayrıca bilateral olarak uygulanabilirli i bu bölgeyi cerrahi açıdan daha çekici hale getirmektedir. Depresyon, demans ve di er mental problemi olan hastalarda tercih edilmemektedir.

## 2.7 - Deneysel Parkinson modeli

Deneysel Parkinson modeli, hastalı ın patofizyolojisini hayvanlar üzerinde taklit ederek, hastalık sürecinde meydana gelen klinik ve histopatolojik de i iklikleri ayrıntılı tanıma ve farklı tedavi yöntemlerinin etkinli ini tespit etme ansı vermektedir. Deneysel Parkinson modeli olu turmak için kullanılan yöntemler içinde nörotoksin uygulama, çevresel toksin uygulama ve genetik olarak de i tirilmi 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 olu turma hali hazırda en çok kullanılan yöntemdir. 6 – OHDA aslında dopaminin hidrosillenmi bir analo udur ve 6 - OHDA santral sinir sistemine uygulandı nda nigrositriatal sistemide içeren katekolaminerjik nöronlarda dejenerasyona sebep olmaktadır ( 89,91,92 ). Dolayısı 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. 6 – OHDA hücre içine alınır alınmaz okside olarak parakuinon ve hidrojen perokside dönüerek ve hidroksi radikallerin oluşması ile ilk toksik etkiyi oluşturur ( 89 ). Ayrıca, 6 - OHDA mitokondriyal kompleks I üzerinde de etkili olup süperoksid serbest radikallerinin oluşumuna da sebep olmakta hücre üzerinde oksidatif streslere de sebep olmaktadır ( 89,91,92 ).

6 – OHDA sistemik olarak uygulandı ında kan beyin bariyerini geçemez. Dolayısı ile nigrositriatal hasarı gerçekleştirebilmek 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 oluşturulacaksa tercih edilir. Santral sinir sisteminde noradrenerjik hücreleri koruyarak, selektif dopamin hücre hasarı oluşturmak için 6 – OHDA 'nın noradrenerjik nöronlara alınması engellenebilir. Desimipramin, 6 - OHDA uygulamasından 30 dakika önce deneye uygulandı ında, verilen 6 – OHDA noradrenerjik nöronlar tarafından alınamamaktadır ( 89 ). Dolayısı ile desimipramin uygulanmış sıçanlarda santral sinir sistemine uygulanan 6 - OHDA selektif olarak dopaminerjik nöron hasarına yol açmaktadır. Etki uygulamadan sonra 12. saatte başlamakta, 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 eksikliğine yol açmaktadır ( 87,89 ).

### 3 - MATERYAL VE METOD

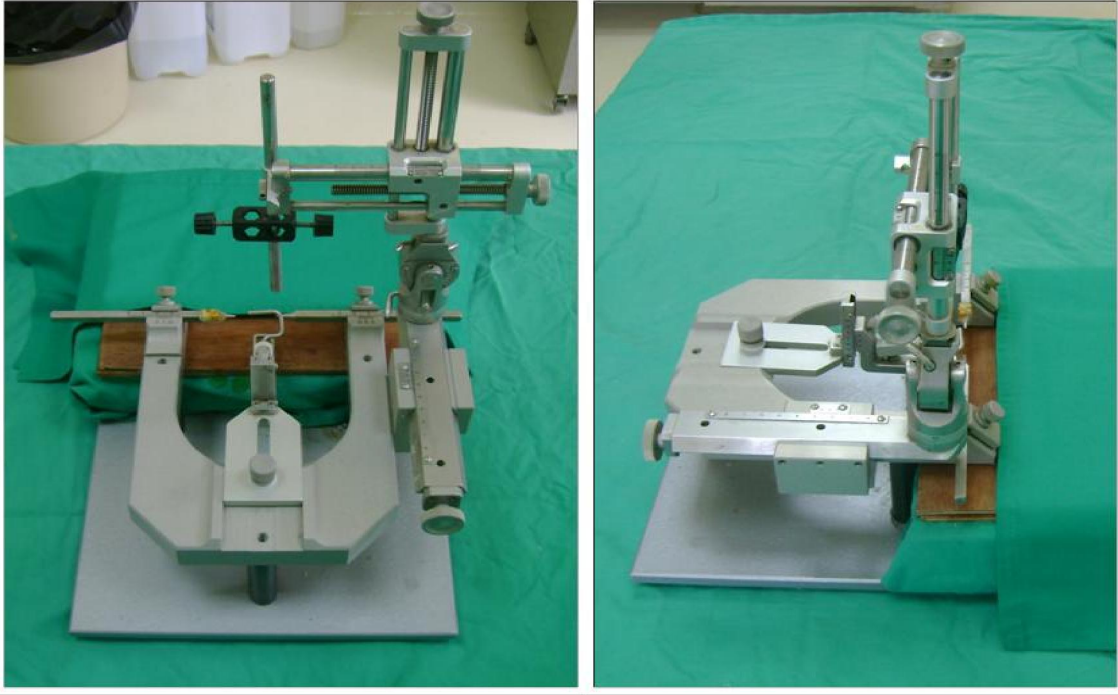
Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Cerrahi Araştırma Merkezi laboratuvarında etik kurulun iznini takiben gerçekleştirildi. Çalışmada, ağırlıkları 300 – 400 gram arasında olan 24 adet erişkin erkek Sprague - Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar üç gruba ayrıldı, SHAM (kontrol) grubunda 8 adet, Parkinson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

#### 3.1 - Cerrahi İşlem

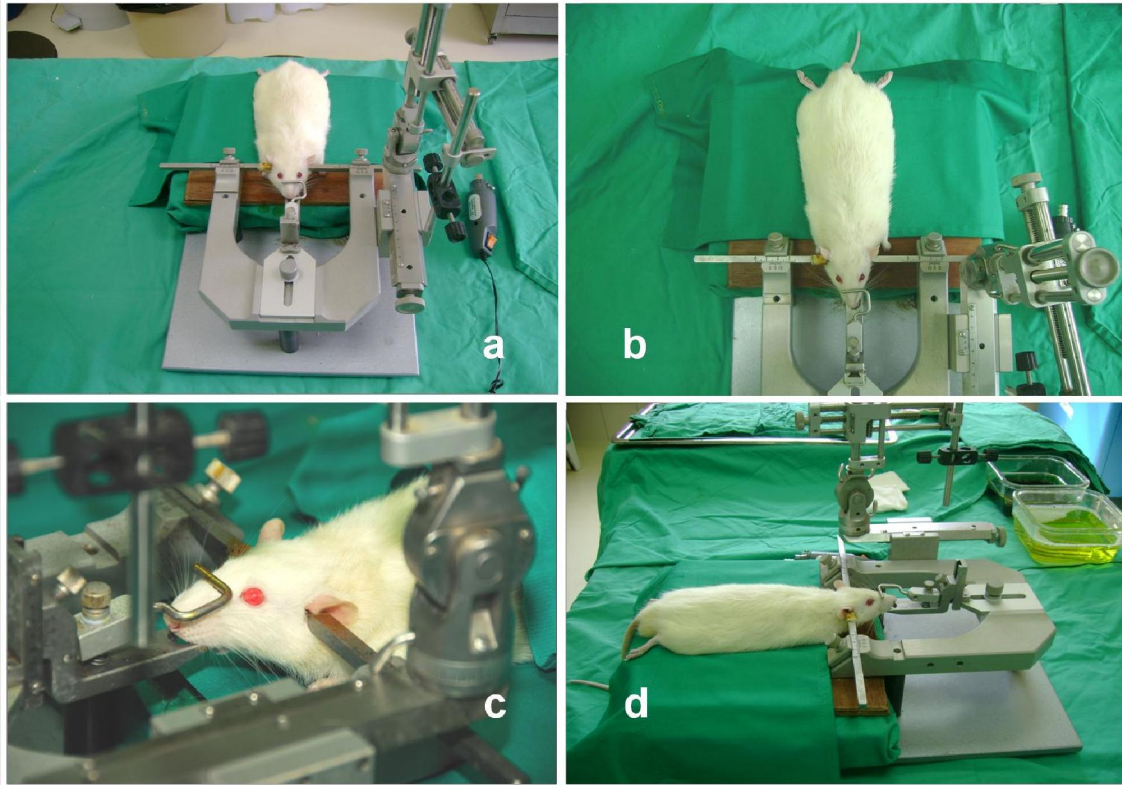
SHAM grubu oluşturmak için 100 ml % 0.9 salin içerisinde 0.2 gr askorbik asit eklenerek % 0.2 lik askorbik asit çözeltisi hazırlandı. Parkinson hastalığı grubunu oluşturmak için kullanılan 6 – Hidroksidopamin solüsyonu; 100 ml % 0.9 luk salin içerisinde 0.2 gr askorbik asit ve 25 mikrogram 6 - Hidroksidopamin (sigma chemical Co.) eklenerek hazırlandı. Entopedunkular nükleotomi (globus pallidotomi) 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) 90 mg / kg ve xylazine (Rompun® Bayer) 10 mg / kg kombinasyonu intraperitoneal kullanıldı.

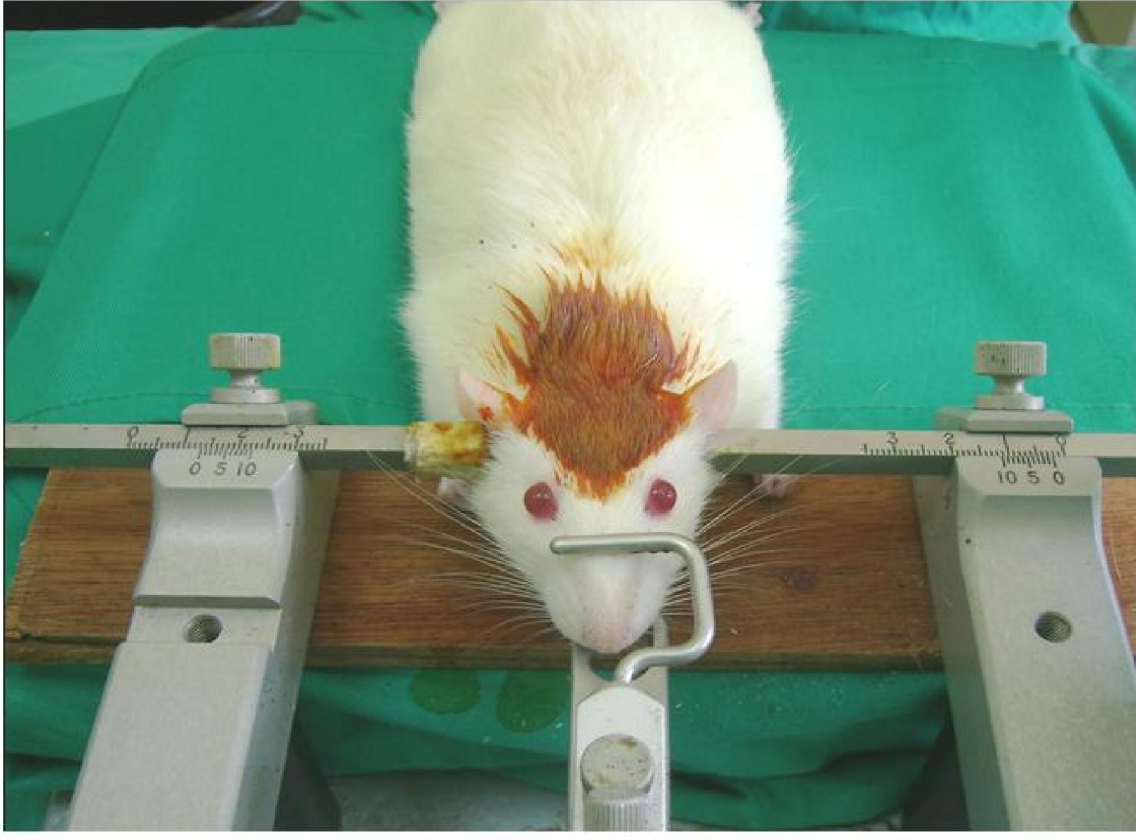
Anestezi sonrası denekler operasyon masasına alındı. Sıçan stereotaksi aleti altında cerrahi saha tra edildiikten sonra % 10 ' luk povidon iyot solüsyonu ( Betadin® Kansuk ) ile cilt antisepsisi gerçekleştirildi. Sagittal sütün boyunca 2 cm' lik orta hat insizyonu ile cilt, cilt altı geçildi. Cilt galea ile birlikte hemostaz klempisi yardımı ile orta hattın her iki yanına retrakte edildi. Bregma ( koroner ve sagittal sütünlerin birleşimi ) ortaya kondu. Bregma noktası referans alınarak daha önceden belirlenmiş olan lateral ventrikül ve entopedunkular nükleusa ( globus pallidus ) ait koordinatlara uygun olacak şekilde giriş noktaları tespit edildi. SHAM ve 6 - Hidroksidopamin grubunda bregmanın arkasına, orta hattın soluna tek taraflı burr holeler açıldı. Entopedunkular nükleotomi ( globus pallidotomi ) grubunda aynı lokalizasyonlara iki taraflı ~0.5 cm<sup>2</sup> lik burr hole alanı oluşturuldu. Sıçan stereotaksi aletine fiixe edilmiş 10 mikrolitrelik hamilton i nesisi ile lateral ventrikül içine bregmanın 0.9 mm posteriorundan, 1.4 mm lateralinden girilerek 4 mm derinliğe ulaşıncaya kadar (AP-0.9, ML 1.4, DV-0.4 ); SHAM grubunda 2 mikrolitre % 0.2 askorbik asit; 6 - Hidroksidopamin grubunda 2 mikrolitre 6 - Hidroksidopamin solüsyonu 5 dakika içerisinde yavaş yavaş verildi. Entopedunkular nükleotomi ( globus pallidotomi ) grubunda ventrikül içine 6-Hidroksidopamin enjeksiyonunu takiben her iki entopedunkular nükleusa [ bregmanın -2.8 mm posteriorunda, 2.8 mm lateralinde ve -7.6 mm derinlikte ( AP -2.8, ML 2.8, DV -7.6 ) ] hamilton i nesisi ile 0.5 nmol (0.1mikrolitre) kainik asit pallidotomi amacı ile 5 dakika içerisinde yavaş yavaş enjekte edildi.



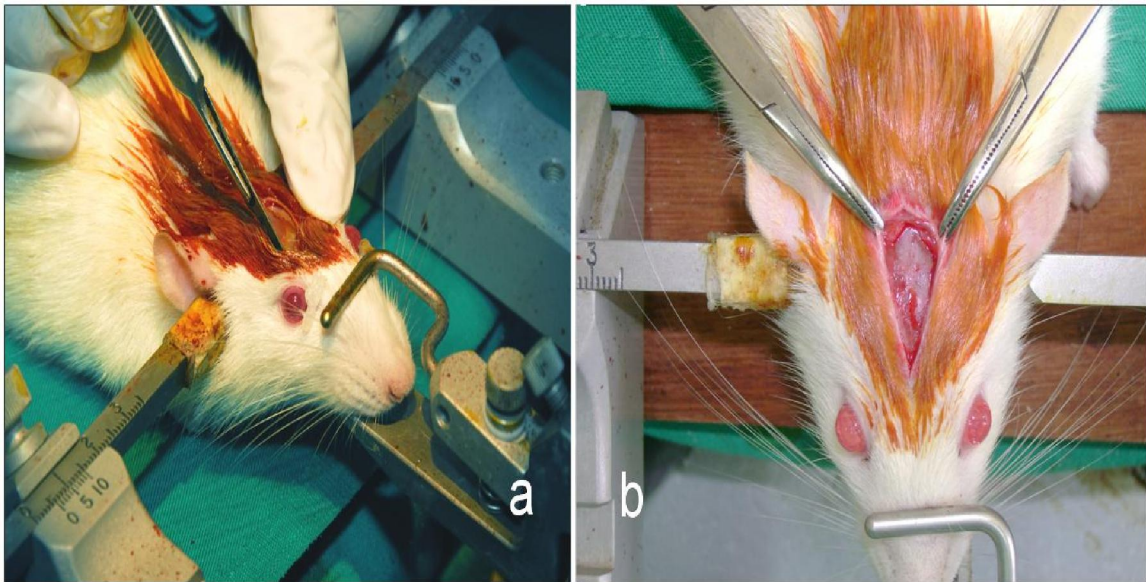
ekil 2 : Sıçan sterotaksi aleti



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

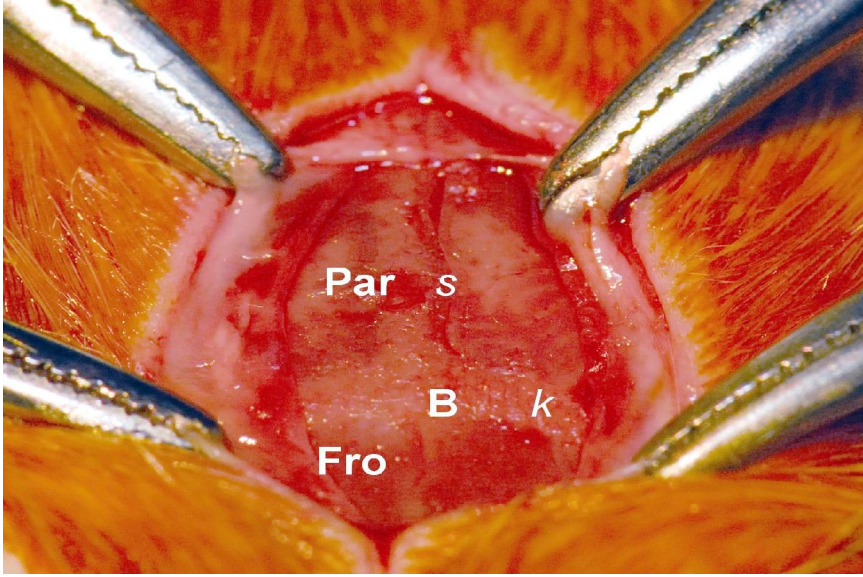


ekil 4: Cerrahi öncesi insizyon sahasının antiseptik amaçlı boyama işlemi.

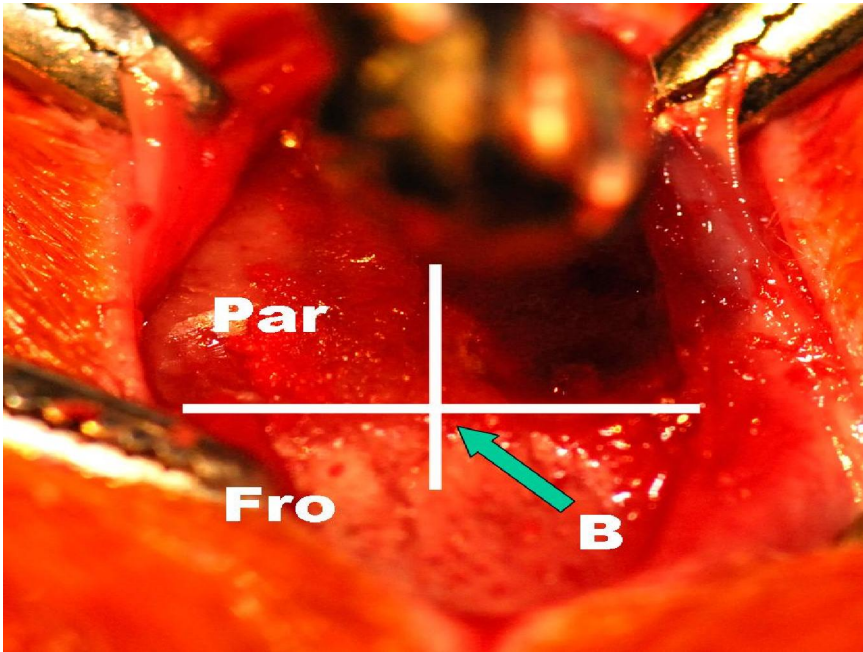


ekil 5 : a : 15 nolu bistüri ile cilt insizyonu, b : retrakte edilmiş cilt görünümü.

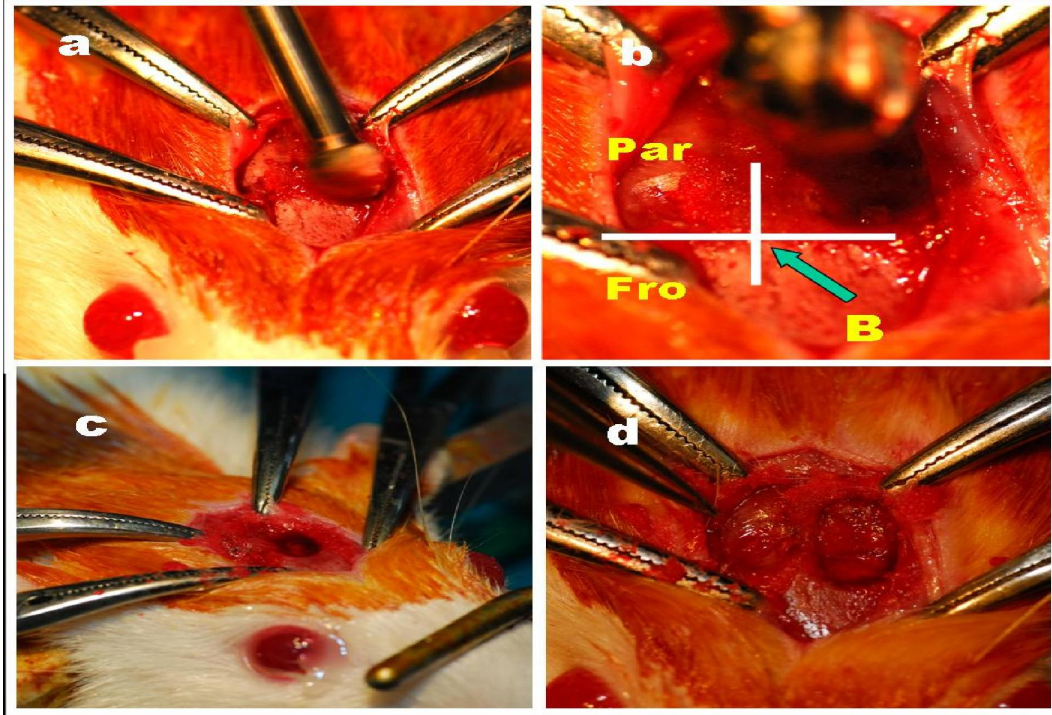




ekil 6: nsizyon sonrası ve retrakte edilmi galea. B: Bregma , k : koroner sütün, s : sagital sütün, Fro : Frontal kemik, Par : Paryetal kemik



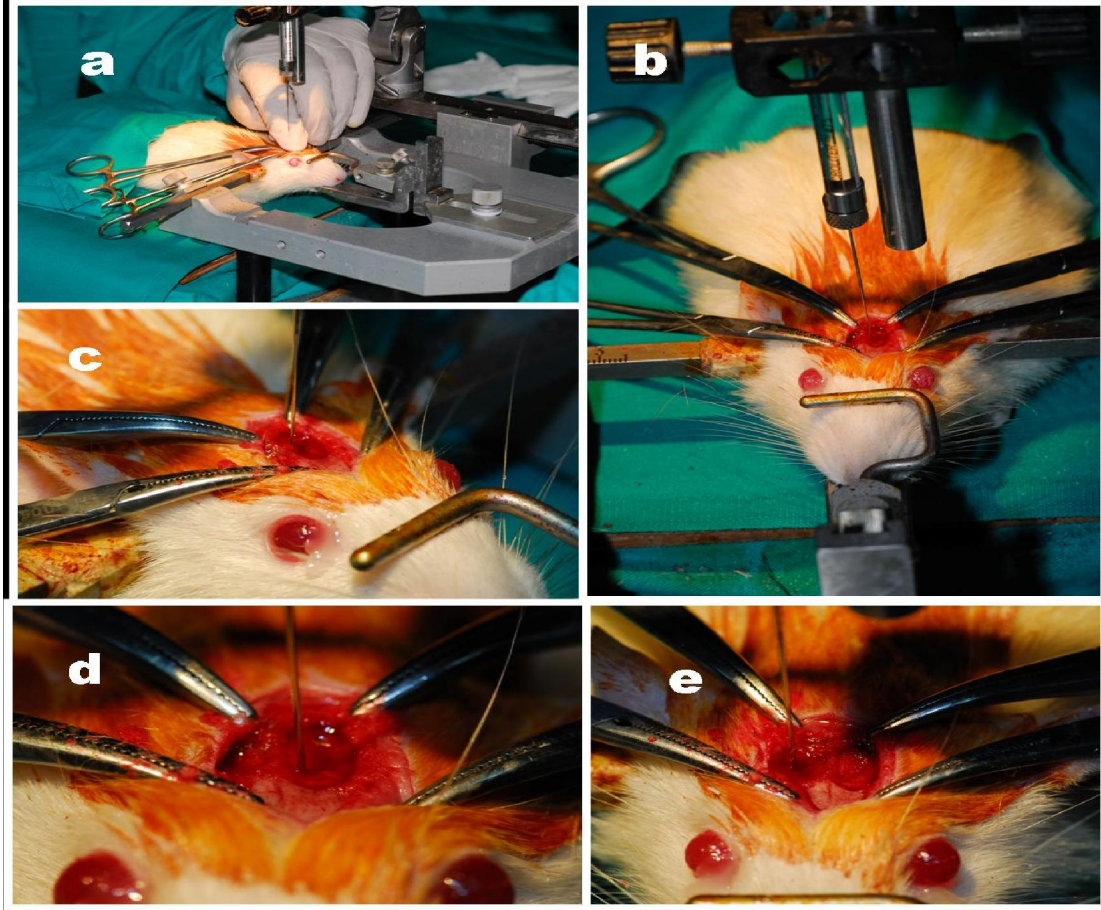
ekil 7 : Bregma referans noktası alınarak paryetal kemi e burr hole açılmasının yakından görünümü. Fro : Frontal kemik, Par : Paryetal kemik , B: Bregma



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

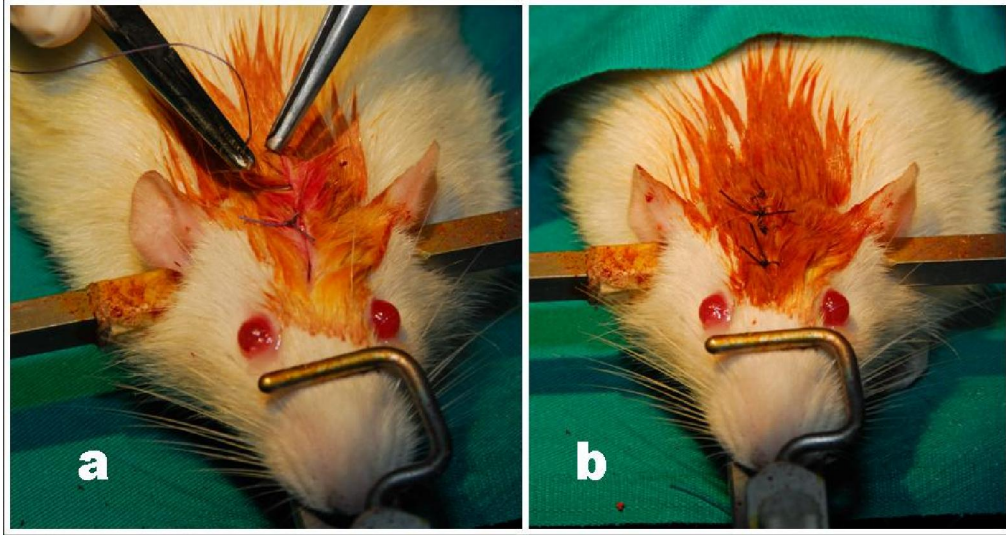


ekil 9 : 5 ve 10 mikrolitrelik hamilton i neleri ve ilaçlar ( desipramine ve kainik asit )



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

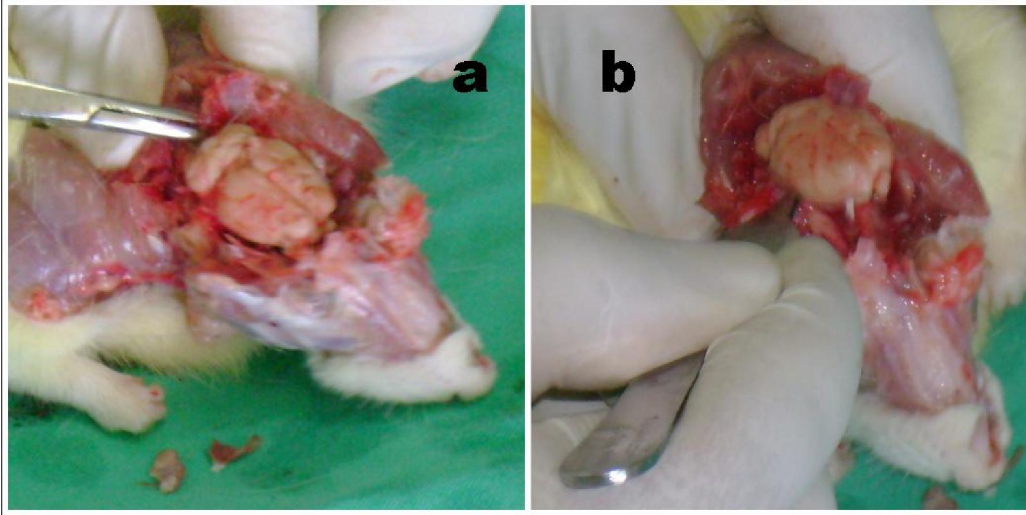
Deney grubundaki her denekte bu cerrahi i lem uygulandıktan sonra cilt altı ve cilt suture edildi. Denekler daha sonra ısıtılmakta olan kafeslerine yerle tirildi. Burada uyanan deneklerin vücut sıcaklı ı sabit tutuldu. Ayrıca i lem sonrası 3 gün boyunca içtikleri suyun içine parasetamol 2 mg / kg konuldu.



ekil 11 : Cerrahi i lem sonrası cildin sütüre edilmesi.

### 3.2 - Perfüzyon i lemi ve mounting

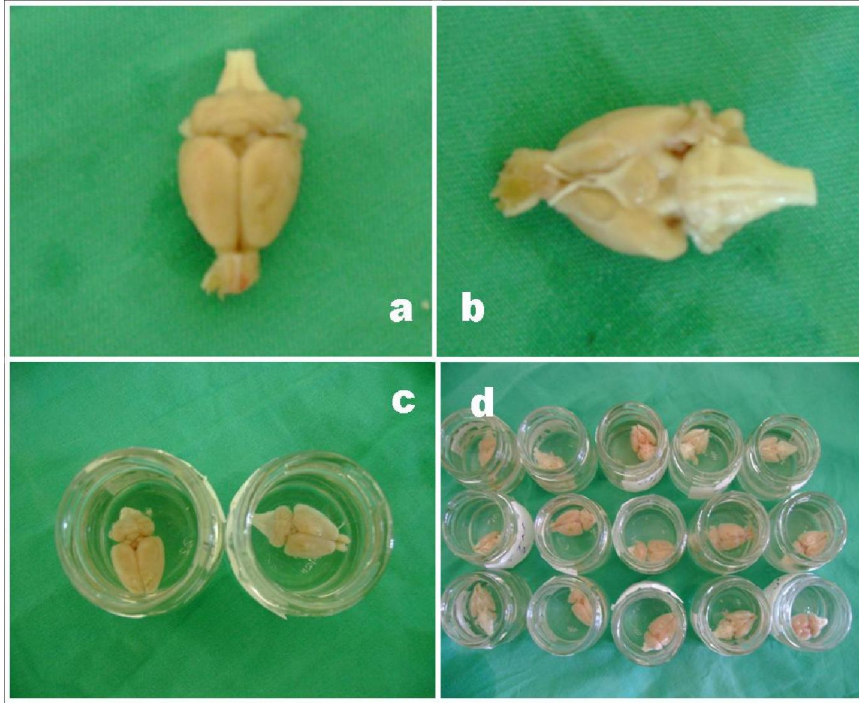
Tüm deneklere birinci ayın sonunda perfüzyon - fiksasyon i lemi uygulandı. Perfüzyon a amasında ketamin ( Ketalar® Parke Davis ) 90 mg / kg ve xylazine ( Rompun® Bayer ) 10 mg / kg kombinasyonu intraperitoneal olarak uygulandıktan sonra transkardiyak yolla sıçanların sol ventrikülüne kanülasyon yapılarak 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.

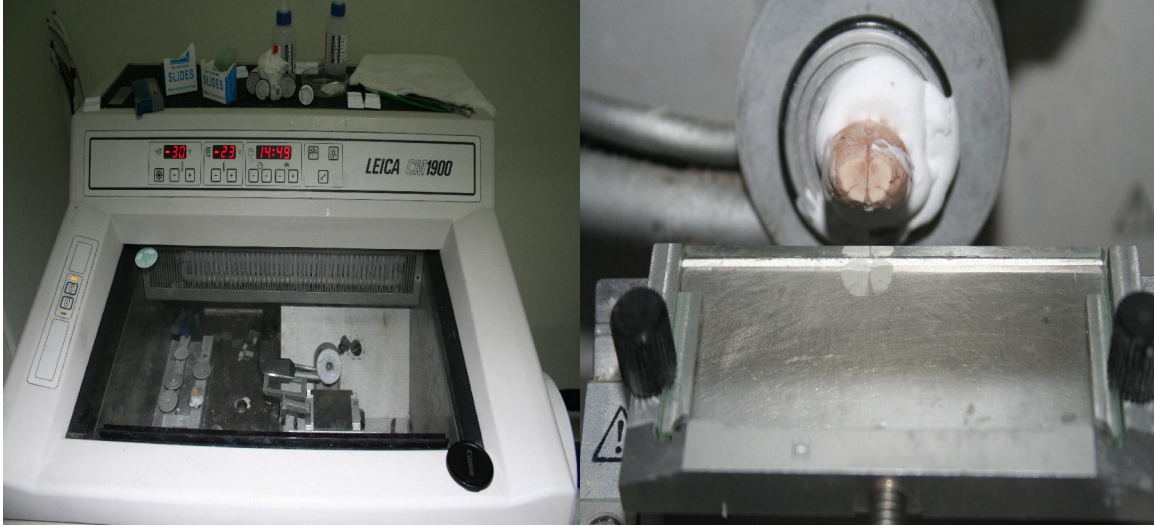


ekil 14 : a – b : Sıçan beyinlerinin alttan ve üstten görünümü c – d : Sıçan beyinlerinin sukroz ve formaldehitli solüsyon içerisinde fikse edilmesi.

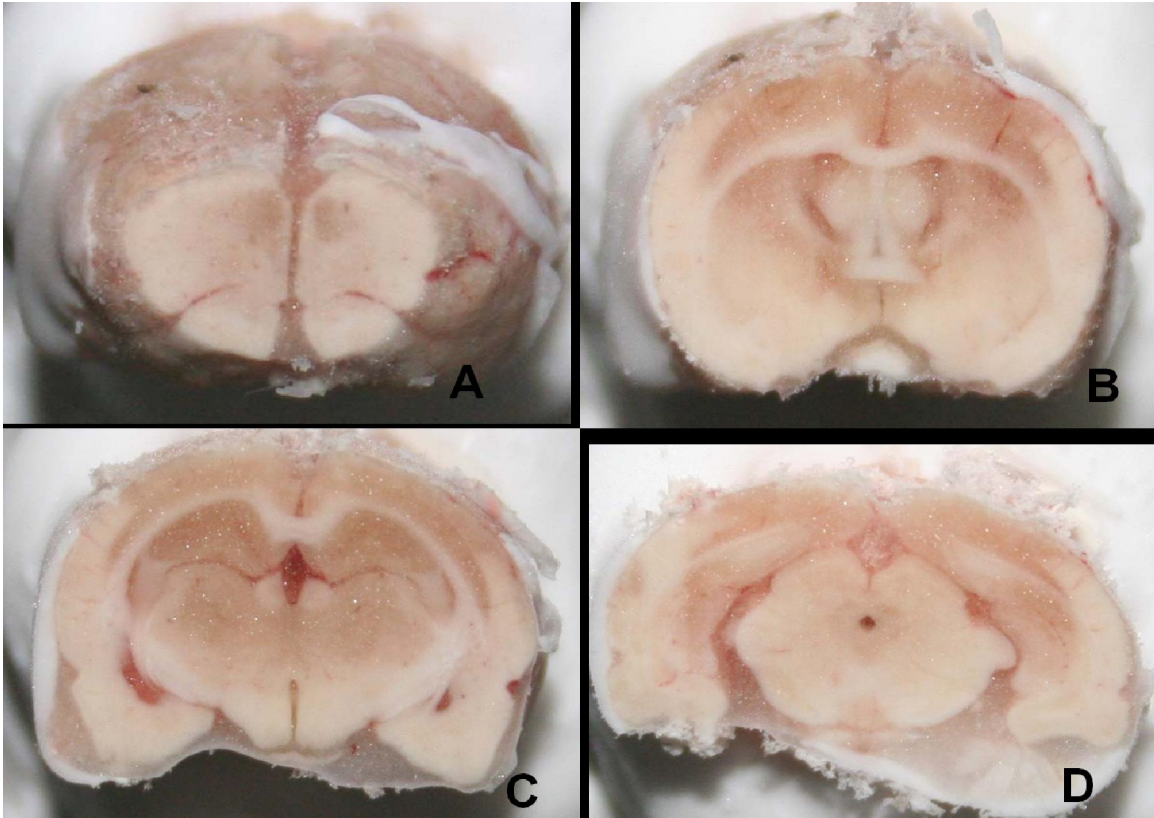
Boyama öncesinde beyinlerden kesit alımı - 26 °C de yapıldı. Cryostat altında ( Leica marka frozen cihazı ile) 30 mikrometrelilik kesitler elde edildi. Her sıçan beyni anatomik özelliklerine göre A, B, C ve D olmak üzere 4 ayrı bölgeye ayrıldı.

Tablo 1 : Sıçan beyninin anatomik bölgeleri

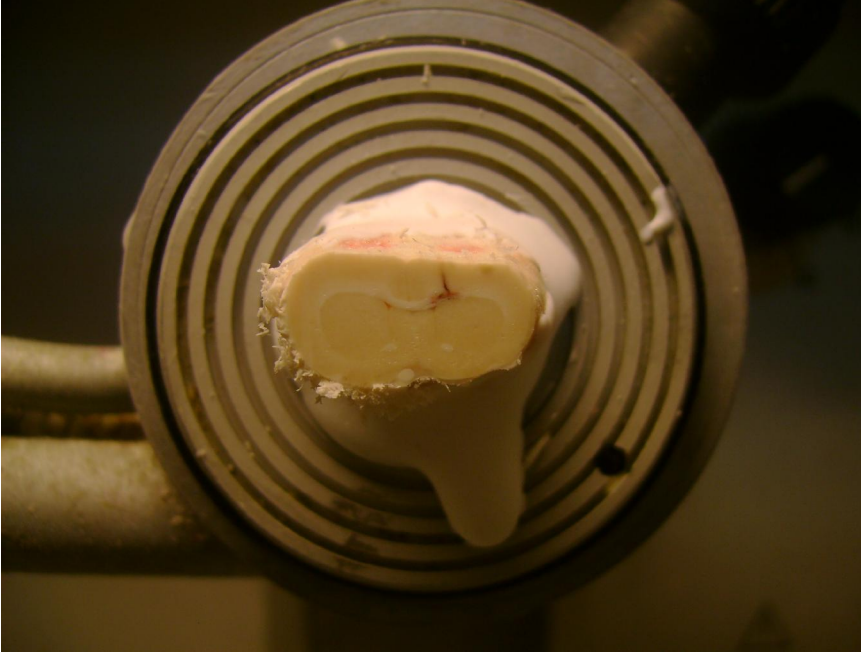
A BÖLGES	Rhinal sulcusların belirginle ti i bölgeden 3. ventrikülün görülmeye ba ladı ı yer.
B BÖLGES	3. ventrikülden hipokampüs ba ının görüldü ü yer.
C BÖLGES	Hipokampüs ba ından aquaductus serebrinin (4. ventrikül ba ı) görüldü ü yer.
D BÖLGES	Aquaductus serebriden serebellumun görülmeye ba landı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



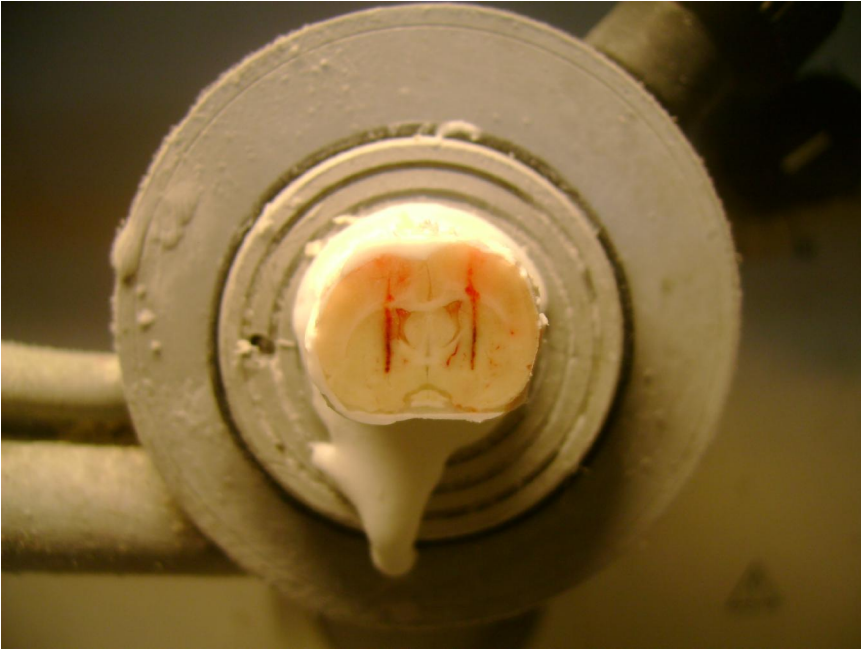
ekil 15 : Leica marka mikrotom cihazı, doku kesitlerinin alınması



ekil 16 : Sıçan beyninin anatomik bölgeleri.



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



ekil 18 : Her iki globus pallidus internusa 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 gangliyonlardan 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.

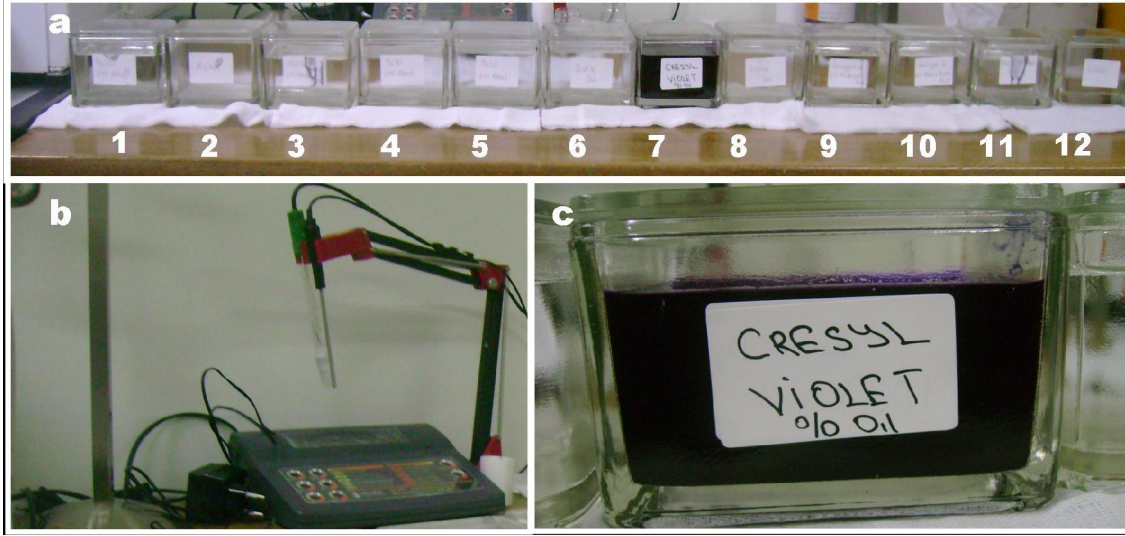
### 3.3 - Nissl boyama tekni i

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 içerisine yerle tirildikten sonra 100% etil alkol içerisinde 2 dakika , xylenes içerisinde 2 dakika, 100 % etil alkol içerisinde 2 dakika, 70 % etil alkol içerisinde 2 dakika, 20 % etil alkol içerisinde 2 dakika, distile su içerisinde 5 dakika bekletildi, cresyl violet ( 0.1 gram cresyl violet acetate + 100 cc distile su ) içerisinde en az 5 dakika ( kesitler çıkınca koyu mor olana kadar ) beklendi. Distile suya 2 defa daldırılıp çıkartıldı, 270 ml 70 % etil alkol + 30 ml 10 % asetik asit 2 defa daldırılıp çıkartıldı, 270 ml 100 % etil alkol + 30 ml 10 % asetik asit 2 defa daldırılıp çıkartıldı, 100 % etil alkol

içerisinde 2 dakika, xylene içerisinde 5 dakika bekletilerek boyama işlemi tamamlandı. Spesmenlerin üzerine enterlan (biomount) dökülerek üzeri lamelle kapatıldı. Nissl boyama yönteminin stereolojik analiz işlemine geçildi.



ekil 21 : a – c, Nissl boyama işlemi ve solusyon dolu kaplar b , pH metre cihazı

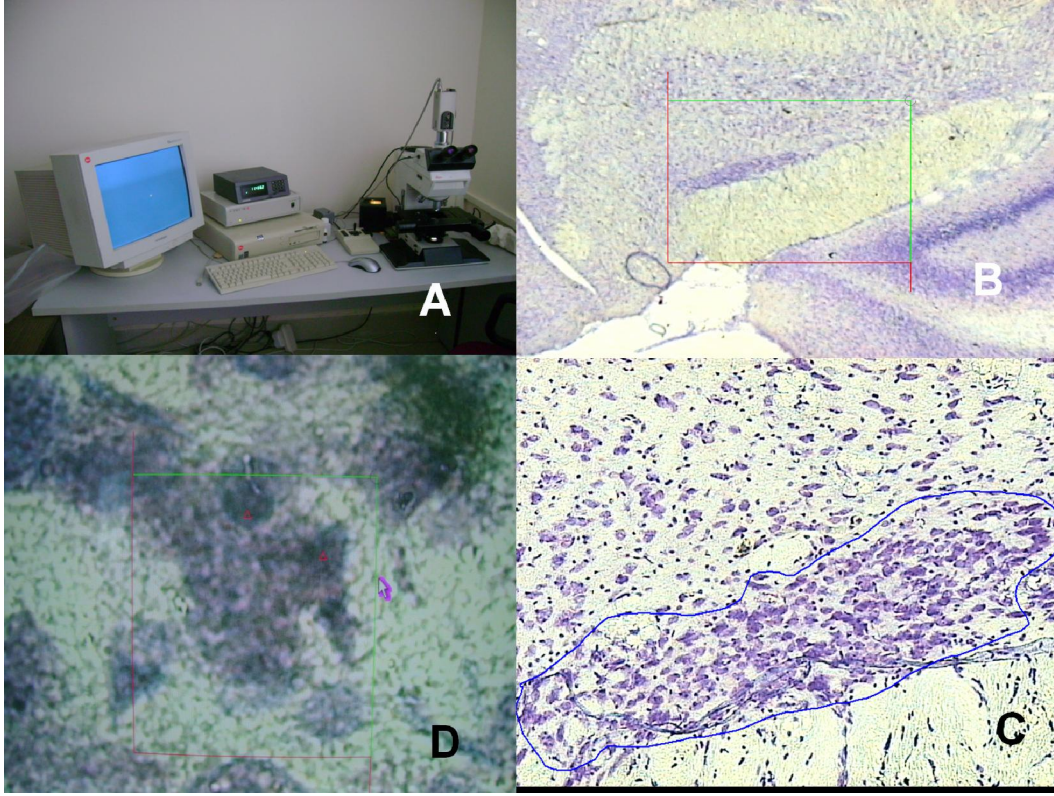
### Stereolojik hücre sayımı

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 sağlamak ve elde ettiğimiz sonuçların güvenilirliği konusunda bize daha fazla garanti vermektedir.

**Tablo 3 :** Stereolojik sayım için kullanılan aletlerin gerçekte tirildiği 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	İk mikroskopu ( Nikon, Eclipse E 600 , Tokyo, Japonya)

Substantia nigra pars kompakta bölgesi ile ilgili kesitler ( C gurubundaki) ik mikroskopunda de erlendirilip sıçan beyin atlasıyla örtü dü ü 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 çalınma stratejisinin izleneceği yapılan ön çalınma ile belirlendi. Sayımlarda optik parçalama yöntemi kullanıldı. Sayım sırasında elde edilen veriler Excel çalınma 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 ).

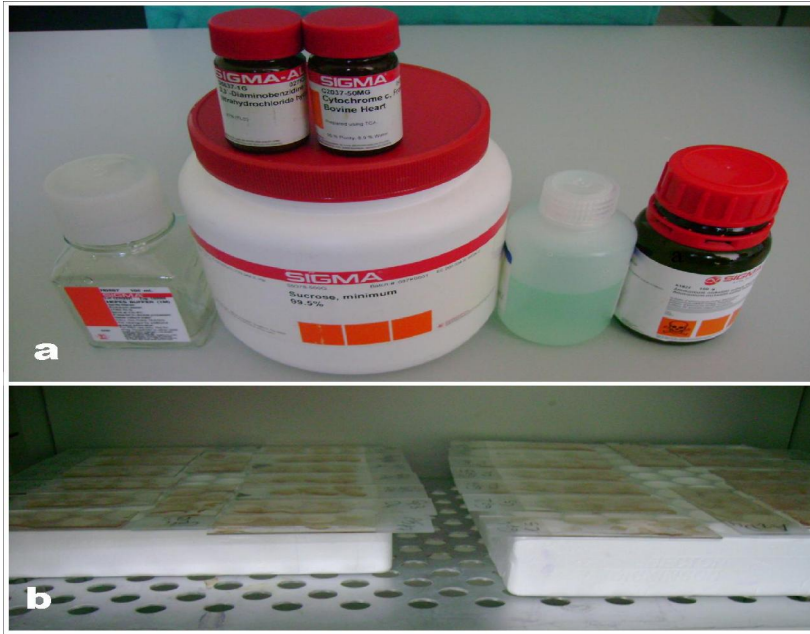
**D bölgesi :** DRN ( dorsal raphe nükleus ) larının metabolik aktivitelerinde olan de i ikliklerin saptanması amacıyla Sitokrom oksidaz boyama yöntemi uygulandı. Bu yöntem 3 a amada uygulandı.

### 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 : Boyanmış 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 <sub>2</sub> 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 ında 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:

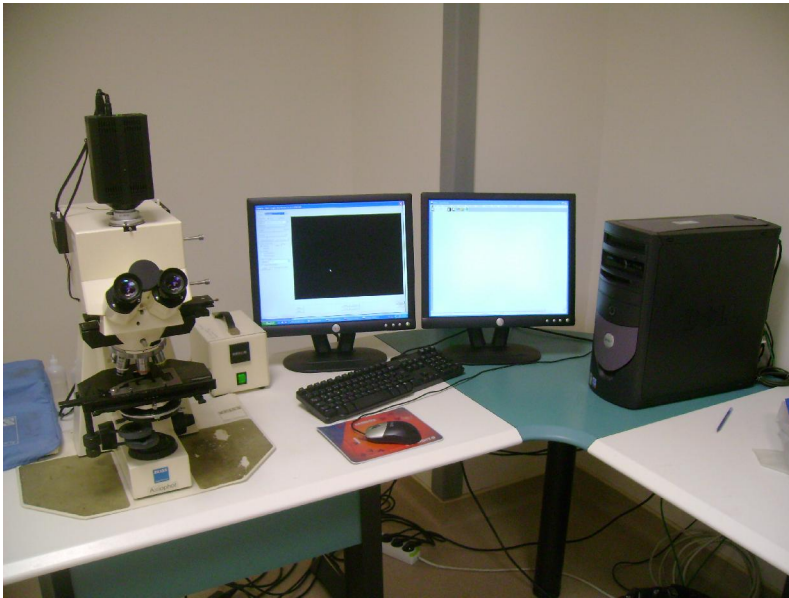
**Tablo 6 :** Sitokrom oksidaz boyamasında dehidratasyon a aması için kullanılan solüsyon içerikleri ve oranları

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 değerlendirme 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 kar ıla tırılarak dokunun aktivitesini belirlemek mümkündür. Bu amaçla, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında yapılan imaj de erlendirme i leminde; I ık mikroskobu ( Zeizz Axiophot, Almanya ), CCD dijital kamera ( Nikon coolpix E 4500, Tokyo, Japonya ) ve IPS 32 ( 32 Bits interaktive image procesing version 4.41 ) siyah beyaz foto raflama programı kullanıldı.



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

### 3.4.5 - Foto raflanan anatomik bölgeler

Motor kontrolde etkili, indirekt ve direkt yollarda yer alan bazal gangliyonlar, 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 GP 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 değişiklikler optik kırılma indeksleri baz alınarak **IMAGE J** programında dansiteleri ölçülerek rakamsal değerler olarak ifade edildi. Excel ortamına kaydedilen değerler istatistiksel çalışmaya hazır hale getirildi.

### 3.5 - Kullanılan istatistiksel yöntemler

İstatistiksel değerlendirmeler 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 değişikliklerinin sonuçları nonparametrik istatistiksel yöntemlerle değerlendirildi.

Substantia nigra dopaminerjik nöron kaybı SHAM, 6 - Hidroksidopamin, entopedunkular nükleotomi ( globus pallidotomi ) gruplarının üçlü karşılaştırılması için " Kruskal - Wallis " testi kullanıldı. Grupların ikili karşılaştırılmasında ise bonferroni düzeltmeli " Mann - Whitney U " testi kullanıldı. Değerlendirmede üçlü karşılaştırmalı testte  $p < 0.05$  , ikili karşılaştırmalı testte  $p < 0.016$  olması anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

Optik kırılma indeksi bazlı metabolik aktivite değişiklikleri sonuçları SHAM, 6 - Hidroksidopamin, entopedunkular nükleotomi ( globus pallidotomi ) gruplarının üçlü karşılaştırılması için " Kruskal - Wallis " testi kullanıldı. Grupların ikili karşılaştırılmasında ise bonferroni düzeltmeli " Mann - Whitney U " testi kullanıldı. Değerlendirmede üçlü karşılaştırmalı testte  $p < 0.05$  , ikili karşılaştırmalı 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 kararlaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.016$ ).

6 - OHDA ve Lezyon grubunda korpus kallozumun metabolik aktivitesi kararlaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.016$ ).

SHAM ve 6 - OHDA grubunda lateral orbital korteksin metabolik aktivitesi kararlaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.016$ ).

6 - OHDA ve Lezyon grubunda lateral orbital korteksin metabolik aktivitesi kararlaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.016$ ).

SHAM ve 6 - OHDA grubunda motor korteksin metabolik aktivitesi kararlaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştı ( $p < 0.016$ ).

6 - OHDA ve Lezyon grubunda motor korteksin metabolik aktivitesi kararlaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştı ( $p < 0.016$ ).

SHAM ve 6 - OHDA grubunda entopedüncüler nükleusun metabolik aktivitesi kararlaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştı ( $p < 0.016$ ).

6 - OHDA ve Lezyon grubunda entopedüncüler nükleusun metabolik aktivitesi kararlaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştı ( $p < 0.016$ ).

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

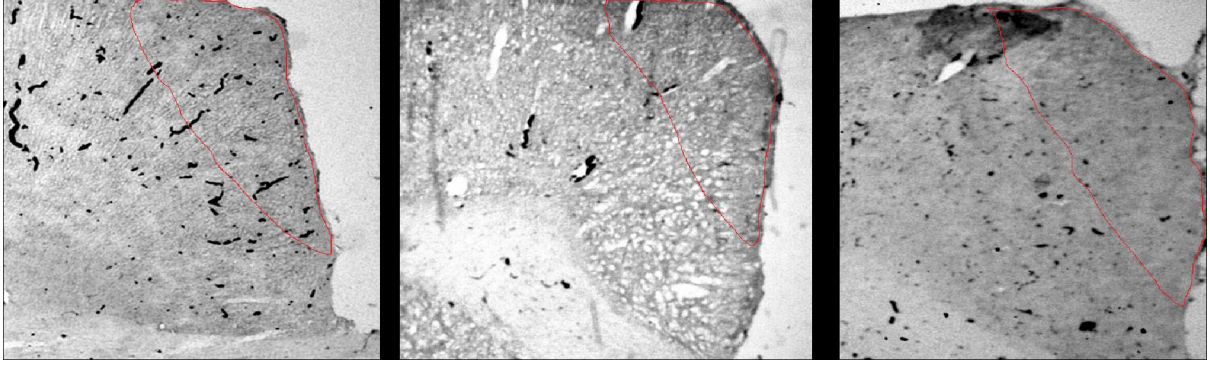
6 – OHDA ve Lezyon grubunda subtalamik nükleusun metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (  $p > 0.016$  ).

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

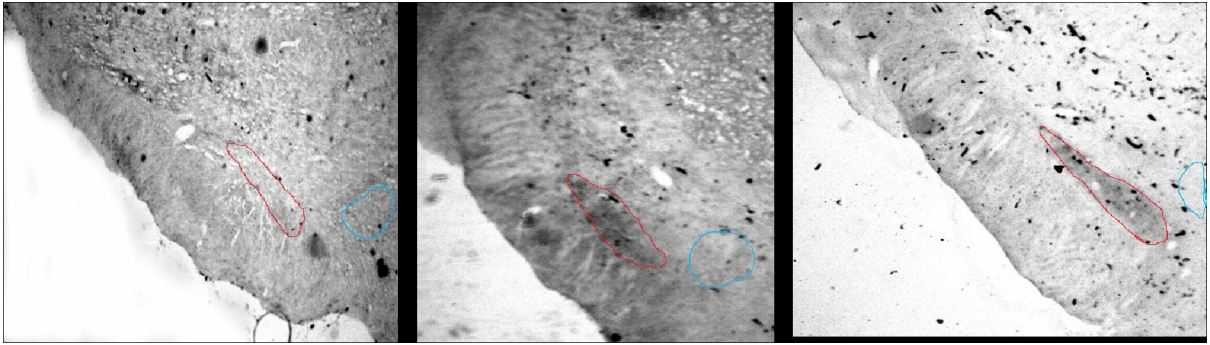
6 – OHDA ve Lezyon grubunda substantia nigra pars kompaktanın metabolik aktivitesi kar ıla tırıldı ında 6 - OHDA grubunda metabolik aktivite istatistiksel olarak anlamlı ekilde artımı tı (  $p < 0.016$  ).

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



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

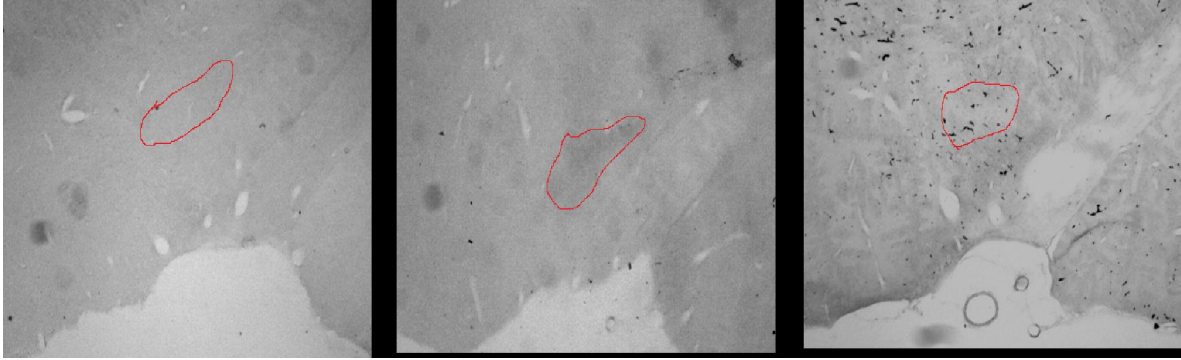


ekil 26 : SHAM, , 6 – OHDA ve Lezyon gruplarında sırasıyla subtalamik nukleusların metabolik aktivitelerinin kar ıla tırılması.

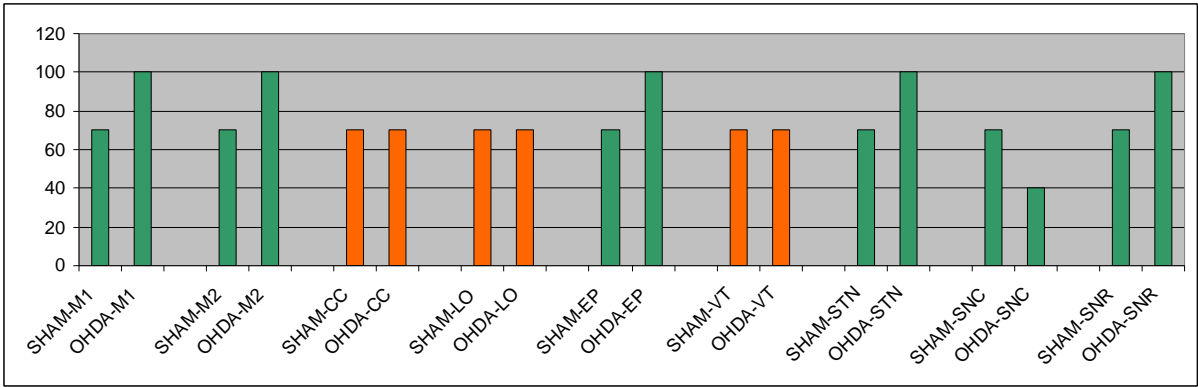


ekil 27 : SHAM, 6 – OHDA ve Lezyon gruplarında sırasıyla substantia nigra pars retikulatalarının metabolik aktivitelerinin kar ıla tırılması.

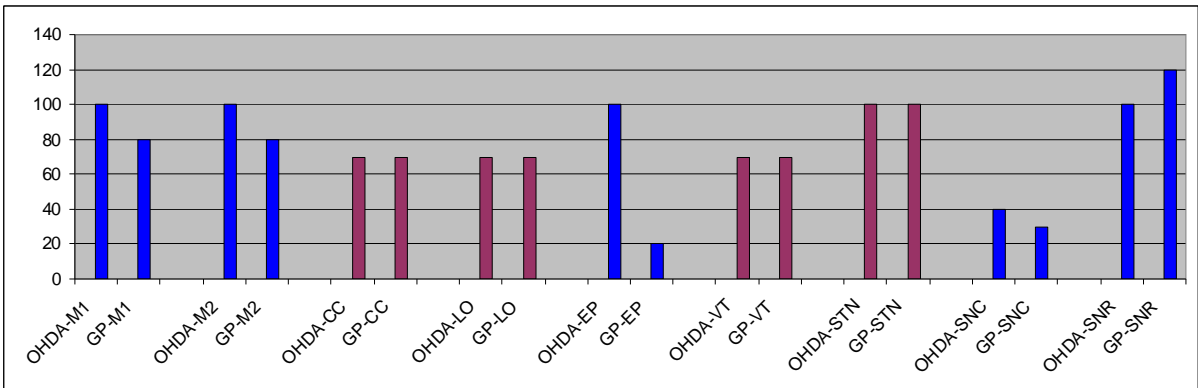




ekil 28 : SHAM, 6 – OHDA ve lezyon gruplarında sırasıyla entopedünküler nükleus metabolik aktivitelerinin kar ıla tırılması ( ikinci resimde metabolik aktivitede belirgin artı , üçüncü resimde lezyon bölgesi görülmektedir ).



ekil 29 : Sitokrom oksidaz boyama sonrası metabolik aktivite artı - azalı oranlarının SHAM ve 6 - OHDA grubunda grafiksel kar ıla tırılması.



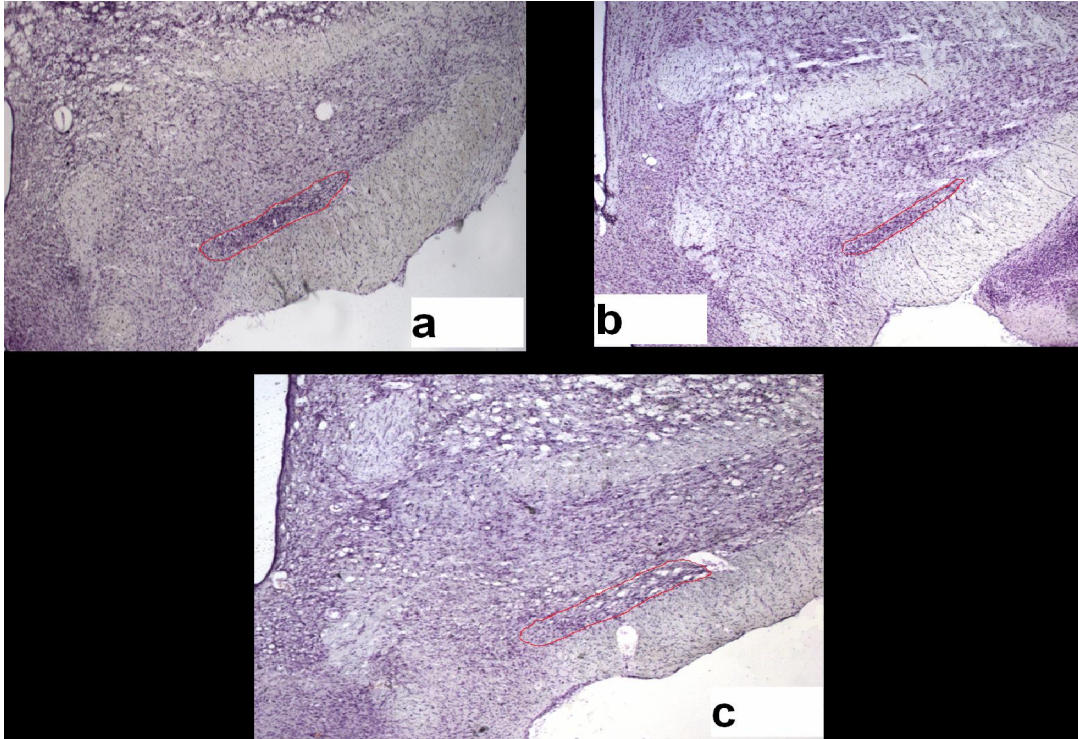
ekil 30: Sitokrom oksidaz boyama sonrası metabolik aktivite artı - azalı oranlarının Lezyon ( GP ) ve 6 - OHDA grubunda grafiksel kar ıla tırılması.

#### 4.2 - Nissl boyama bulguları

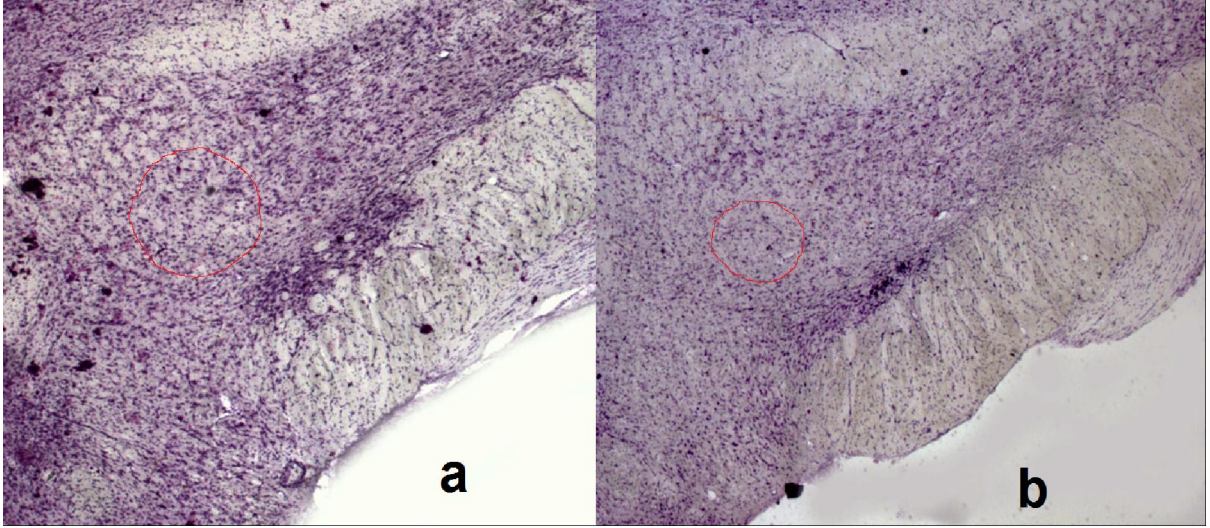
SHAM ve 6 – OHDA grubunda substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöron kaybı karşılaştırıldığında 6 – OHDA grubunda hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmı tı. ( $p < 0.016$ ).

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

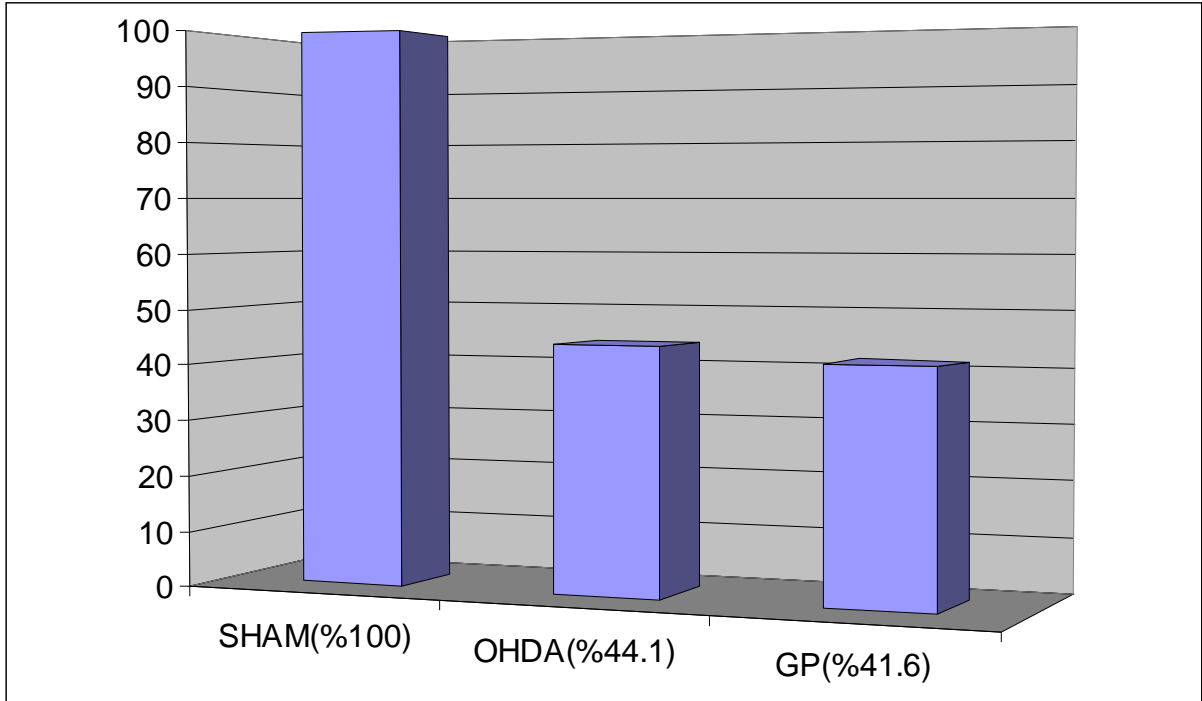
6 - OHDA ve Lezyon grubunda substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöron kaybı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.016$ ).



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 globus pallidus internusta (entopedunkuler nukleus ) nöronal hücre kaybının nissl boyama yöntemi ile gösterilmesi. a: SHAM grubu , b: Lezyon grubu



ekil 33 : Nissl boyama sonrası Substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöron kaybının grafiksel kar ıla tırılması.

## 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). Indirekt yolun aktivasyonu, bazal ganglion çıkışı 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 kliniğe 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 artışını 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 belirlemek 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 aretleyci 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 yollardan 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 Parkinson'da veya tedavi sonucunda harekette 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 yolların, eksitator ve inhibitör uyarılarının, kompensasyon mekanizmalarının ve geri beslemelerin ( feed back ) tam ortaya konmasıyla anlaşılabilir.

Deneyel 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, entopedünküler 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 önce tartışıldığı üzere Parkinson olgularında direkt yolun kesintiye uğramasının, indirekt yol üzerinden hareketin miktar ve organizasyonunun bozulmasına yol açtığı düşünülmektedir. 6 - OHDA ile Parkinson oluşturan sıçanlarda subtalamik nükleus, entopedünküler nükleus ve substantia nigra pars retikülata da gözlenen aktivite artışı da bu öngörüye destekler niteliktedir.

Son yıllarda Parkinson hastalığında cerrahi yöntem olarak uygulanan globus pallidus internusun 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 saptanmıştır ( 104,105 ). İginç olarak Eidelberg ve ark., (106) Parkinsonlu hastalarda yaptıkları bir PET çalı masında, pallidotomi sonrasında motor korteks ba ta olmak üzere serebral kan akımında artı saptamı lar ve bu sonucu, bazal ganglion output nükleuslarından kortekse etki eden inhibitör uyarımın kalkması olarak tariflemi lerdir. Deneysel veri ise bu konuda yoktur. 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 anlık 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 substansia nigra pars retikülata, subtalamik nükleus, entopedunkular nükleusda aktivitenin tedavi öncesine göre azalması ve kortikal aktivitenin artarak düzelmesidir.

Bu çalı mada ise entopedünküler nükleus lezyonu sonrasında, parkinsonlu sıçanlarda artımı motor korteks metabolik aktivitesi dü mü ve artımı substansia nigra pars retikülata metabolik aktivitesi daha da belirginle mi ; subtalamik nükleus aktivitesi ise etkilenmemi tir. Di er bölgelerde ise belirgin fark saptanmamı tır. Daha önceden bahsedildi i gibi, günümüzde literatürde bahsedilen veriler ı ı nda, normal artlarda yapılan lezyonun, substantia nigra pars retikülata metabolik aktiviteyi dü ürmesini, 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 substansia 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 entopedunkular nükleusda 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 ıldı ı 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 olmasıyla ortaya çıkan geri beslemelerin ( feed back ) sonucunda olabilir. Bu durumda söyleyebilece imiz tek ey entopedunkular nükleus lezyonunun, substansia nigra pars retikülata ile korteks ve hareketin olu umunu etkileyen di er nukleuslar ( pedunkulopontin, talamus, substantia nigra pars kompakta, retiküler formasyon, beyin sapı ) arasındaki etkile imi bozdu udur. Sonuçta indirekt yol verimli çalı amamakta ve parkinsonian bulgular düzelmektedir.

Parkinsonlu sıçanlarda ortaya çıkan artmı kortikal aktivitenin lezyon sonrası dü mesi de benzer mekanizmayla, direkt fonksiyonun göstergesi olarak de il sadece bölgesel enerji ihtiyacının de i ikli i olarak yorumlanmı tır. Yani Parkinson motor korteksin enerji ihtiyacını arttırabilir, lezyon da bunu tersine çevirebilir. Bulgularımızdan bir tanesinde de, 6 - Hidroksidopamin enjeksiyonu



sonrası muhtemelen dopaminerjik hücre kaybına bağlı olarak, substansia nigra pars kompaktada metabolik aktivitede düme saptamı tık. Lezyon sonrası bu aktivite istatistiksel ekilde anlamlı olarak daha da düük tespit edildi. Bu durumda, pallidotominin Parkinson' un ana sebebi olan substansia nigra pars kompakta da daha fazla stres yaratıp yaratmadı ı önemli bir konu olup, bu konunun daha ileri çalı malarla de erlendirilmesinde büyük yarar vardır.

## 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.
- 4- Pallidotominin substansia nigra pars kompaktayı da direkt olarak etkileme ihtimali vardır.

## 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 Yébenes 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, Meco 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-Petersen 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, Dóczi 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, Waggie 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 <sup>14</sup>C-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. Eidelberg D, Moeller JR, Ishikawa T, Dhawan V, Spetsieris P, Silbersweig D, Stern E, Woods RP, Fazzini E, Dogali M, Beric A. Regional metabolic correlates of surgical outcome following unilateral pallidotomy for Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 1996 Apr;39(4):450-9.