

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ROTENON İLE DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULMUŞ
PARKİNSON MODELİNDE ÖSTROJENİN ETKİSİ

Arş. Gör. Mustafa MAKAV
Fizyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Avni EROĞLU

2018-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Araş. Gör. Mustafa MAKAV tarafından hazırlanmış olan “**Rotenon ile deneysel olarak oluşturulmuş Parkinson modelinde östrojenin etkisi**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy **birliği** ile **kabul** edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/06/2018

Adı-Soyadı

İmza

Başkan: Prof. Dr. Mustafa EDREMITLİOĞLU

Üye: Prof. Dr. Metehan UZUN

Üye: Prof. Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN

Üye: Doç. Dr. Metin ÖĞÜN

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Avni EROĞLU

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Duygu KAYA
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yaşlanma, dokular, organlar ve organ sistemi fonksiyonlarının ilerleyen bir düşüşü olarak karakterize olan ve tüm insanların yaşadığı doğal bir süreçtir. Bu dejenerasyon hali, sonuçta ölümlerle sonuçlanan hastalığa karşı artan duyarlılığa yol açar. Bu tür yaşla ilişkili hastalıkların progresyonunun zaman içinde mitokondriyal deoksiribonükleik asit (DNA) mutasyonlarının birikmesinin önemli bir faktör olduğuna inanılmaktadır.

Birçok kişi Alzheimer hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz ve Parkinson hastalığı gibi birçok yaşa bağlı hastalık ile ilişkili nörodejenerasyona, mitokondriyal disfonksiyonun katkıda bulunduğunu ifade etmektedir.

Dünyada her geçen gün yaşlı nüfus oranı artmaktadır. Son zamanlardaki araştırmalar, yaşlı bireylerde nörolojik hastalıkların prevalansın da artış olduğunu ortaya koymuştur. Bu hastalıklardan birisi çoğunlukla insanların yaşlarına göre etkilemekte olan Parkinson hastalığıdır. Bu hastalığın belirtileri arasında hareketlerin kısıtlanmaya başlaması, günlük yaşam aktivitelerinde sıkıntılarının oluşması, yüz kaslarının sertliğine bağlı olarak ağrı ve iletişim sorunlarına bunu la beraber yaşam kalitesinin azalmasına neden olduğu bildirilmektedir.

Parkinson hastalığının gelişiminde en önemli risk faktörü olan yaş olduğu bilinmekle beraber yapılan epidemiyolojik çalışmalar erkeklerin hastalığa yakalanma olasılığının iki kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda, Parkinson hastalığının hayvan modellerinde nörotoksin kaynaklı dopamin azalmasına karşı östrojenin koruyucu potansiyelinin var olduğunu göstermiştir. Ayrıca östrojenin, hastalıklara bağlı olarak azalmış kadın popülasyonlarında görülen kadın sayısının artması yönünde katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür. Yapılan çalışmalar seks hormonlarının Parkinson hastalığının oluşumunda bire bir ilişkisi olmadığını fakat hastalığın gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Parkinson hastalığının görülme sıklığının gün geçtikçe yaşlı nüfusun yanı sıra genç nüfusta da artış göstermesi bu hastalığa yönelik araştırmaların önemini ve

yaygınlaşmalarını sağlamıştır. Yapılan literatür taramalarında erkeklerin Parkinson hastalığına daha yatkın olmaları ve kadınların menopozdan sonra hastalığa yakalanmaları akla östrojen eksikliğini gelmektedir. Bu bilgiler ışığında deneysel olarak oluşturulan Parkinson hastalığında öströjenin etkisinin araştırılması bilime katkı sağlayacaktır.



TEŞEKKÜRLER

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, bu süreç içerisinde katkı ve desteğini üzerimden esirgemeyen akademik hayatıma başladığım günden itibaren daima bana ışık tutan saygıdeğer danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Avni EROĞLU'na, çalışma sırasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Hidayet Metin ERDOĞAN, Prof. Dr. Serpil DAĞ, Prof. Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN, Prof. Dr. Erdoğan UZLU, Doç. Dr. Metin ÖĞÜN, Dr. Öğr. Üyesi Mushap KURU, Arş. Gör. Dr. Emin KARAKURT, Arş. Gör. Abdulsamed KÜKÜRT, Arş. Gör. Mükrem ÖLMEZ, Arş. Gör. Hilmi NUHOĞLU ve Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, eğitim öğretim boyunca her türlü imkânı sunan güzel ülkem Türkiye Cumhuriyeti Devleti'ne, hayatım boyunca maddi manevi desteğini esirgemeyen sevgili aileme ve eşime teşekkürlerimi borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
TEŞEKKÜRLER	III
İÇİNDEKİLER	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VIII
RESİM LİSTESİ.....	IX
TABLolar LİSTESİ.....	XI
GRAFİK LİSTESİ	XII
ÖZET.....	XIII
ABSTRACT	XIV
1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Parkinson Hastalığı.....	1
1.1.1. Hastalığın Görülme Sıklığı.....	3
1.1.2. Tanı Kriterleri.....	4
1.1.3. Tedavi Metotları	6
1.1.4. Yaşam Kalitesine Etkisi	7
1.1.4.1. Fiziksel Etkisi	7
1.1.4.2. Sosyal Yaşama Etkisi.....	8
1.1.5. Parkinson Hastalığı Deneysel Modelleri	8
1.1.5.1. Farmakolojik Modeller	8
1.1.5.2. Toksik Modeller.....	9
1.1.5.2.1. 6-Hidroksidopamin (6-OHDA) Modeli	9
1.1.5.2.2. 1-Metil-4-Fenil-1,2,3,6-Tetrahidropiridin (MPTP) Modeli.....	11
1.1.5.2.3. Rotenon, Parakuat, Manabe ve Metamfetamin Modelleri	13
1.1.5.2.4. Üç-nitrotirosin Modeli	15
1.1.5.3. Genetik Modeller	16
1.1.6. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Motor Aktivite Testleri.....	16
1.1.6.1. Rotarod Testi.....	19
1.1.6.2. Pole Testi	20
1.1.6.3. Yüzdürme Testi.....	21
1.2. Hücre Ölümü	22
1.2.1. Apoptotik, Nekrotik ve Otofajik Hücre Ölümü.....	23
1.2.1.1. Apoptoz.....	23
1.2.1.2. Nekroz.....	26
1.2.1.3. Otofaji	27
1.2.2. Apoptotik Yollar.....	28
1.2.2.1. Ekstrinsik yol	29
1.2.2.2. İntrinsik Yol.....	30
1.2.3. Bcl-2	31
1.2.4. Kaspazlar	32
1.3. Östrojen.....	35

1.3.1. Östrojen hormonunun temel etki mekanizması.....	35
1.3.2. Östrojen ve Parkinson Hastalığı.....	38
2. MATERYAL VE METOT.....	41
2.1. Materyal.....	41
2.2. Metot.....	42
2.2.1. Kullanılan Alet ve Malzemeler	42
2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	43
2.2.3. Kullanılan Kitler.....	43
2.2.4. Kullanılan Diğer Malzemeler	43
2.2.5. Rotenon'un Hazırlanışı.....	43
2.2.6. Doku Homojenizasyonu İçin Kullanılan Tampon Çözelti	44
2.2.7. Overektomi Operasyonu.....	44
2.2.8. İmplant Uygulaması	47
2.2.9. Rotarod Testi Uygulanması.....	49
2.2.10. Pole Testi.....	50
2.2.11. Yüzdürme Testi	52
2.2.12. Örneklerin Alınması	55
2.2.13. Biyokimyasal Analiz	57
2.2.14. İmmunohistokimyasal İncelemeler	59
2.2.15. İstatistiksel Analiz	60
3. BULGULAR.....	61
3.1. Motor Aktivite Bulguları.....	61
3.1.1. Rotarod Testi Bulguları	61
3.1.2. Pole Testi Bulguları.....	62
3.1.3. Yüzdürme Testi Bulguları	64
3.4. Biyokimyasal Bulguları	66
3.4.1. Kaspaz-3 Analiz Bulguları	66
3.4.2. Bcl-2 Analiz Bulguları	68
3.5. Histopatolojik Bulgular	70
3.6. İmmunohistokimyasal Bulgular	73
4. TARTIŞMA.....	81
5. SONUÇ	88
KAYNAKLAR	90
ÖZGEÇMİŞ.....	108

SİMGELER ve KISALTMALAR

6-OHD	6-Hidroksidopamin
AIDS	Edinilmiş İmmün Yetmezlik Sendromunun
AIF	Apoptoz İndükleyici Faktör
AIF	Apoptoz İndükleyici Faktör
ALS	Amiyotrofik Lateral Skleroz
APAF1	Apoptoz Proteaz Aktive Edici Faktör 1
ATP	Adenozin Trifosfat
Bad	Bcl-2 İlişkili Ölüm Promoteri
Bak	Bcl-2 homolog antagonist / katil
Bax	Bcl-2 ile ilişkili X protein
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
Bcl-xL	B-hücreli lenfoma-ekstra büyük
Ca+2	Kalsiyum
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CIAP1	Baculoviral İap Tekrar İçeren Protein 2
CIAP2	Baculoviral İap Tekrar İçeren Protein 3
DA	Dopamin
DAB	3,3-Diaminobenzidin Tetra Hidroklorid
DNA	Deoksiribonükleik asit
DOPAC	Dihidrofenilasetik Asit
ERK	Hücre Dışı Sinyalin Düzenlediği Kinaz Yolağı
ERs	Östrojen Reseptörleri
FADD	Fas Bağımlı Ölüm Altbirim Proteini

Fas (CD95)	Apoptoz antijen-1
HIV	İmmün Yetmezlik Virüsü
HYE	Hoehn-Yahr Evrelendirme Ölçeği
IHC	İmmunohistokimyasal Yöntem
L-DOPA	Levodopa; L-3,4-Dihydroxyphenylalanine
MAO-B	Monoamin oksidaz-B
MAPK	Mitojenin Aktifleştirdiği Protein Kinaz
MPP+	1-Metil-4-Fenilpiridinyum
MPT	Mitokondriyal Geçirgenlik Geçişi
MPTP	1-Metil-4-Fenil-1,2,3,6-Tetrahidropiridin
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
PARK1	α -sinüklein
PARP	Poli-ADP-Riboz-Polimeraz
PKA	Protein Kinaz A
PKC	Protein Kinaz C
PTEN	Fosfataz ve Tensin Homologu
QoL	Parkinsonlu hastaların yaşam kalitesi
ROS	Reaktif Oksijen Türlerinin
SN	Substansia Nigra
STR	Striatum
TH	Tirozin Hidroksilaz
TNF	Tümör nekroz faktör
TRAIL	Tümör Nekroz Faktör Reseptör Süperailisi

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1: Stereotaksi cihazı	9
Şekil 2: Deneysel Parkinson oluşturuıcı nörotoksinlerin etki mekanizmaları	10
Şekil 3: Deneysel Parkinson modelinde nörotoksinlerin dopamin hücreğine etkisi	12
Şekil 4: Rotenonun Yapısı	14
Şekil 5: Rotarod Testi Mekanizması	19
Şekil 6: Pole testi. (A) bir taban üzerinde stabilize 50 cm uzunluğunda ahşap çubuk. (B) Test sırasında farenin yukarı çıkmasını önlemek için çubuğun üstten tutulması	21
Şekil 7: Yüzdürme Testi	22
Şekil 8: Apoptoz ve Nekroz	24
Şekil 9: Apoptotik (A) ve Otofajik (B) Hücre Ölümü	28
Şekil 10: Apoptoziste Ekstrinsik ve İntrinsik yol	29
Şekil 11: Bcl-2 Sınıflandırılması	32
Şekil 12: Kaspaz Çeşitleri ve Etkin Alanları	34
Şekil 13: Steroid Östrojenler ve Yapısı	36
Şekil 14: Bregma ve lambda noktası	56

RESİM LİSTESİ

	Sayfa No
Resim 1a: Overektomi Opersyonu Basamakları	45
Resim 1b: Overektomi Opersyonu Basamakları	46
Resim 2: 17 β -Estradiol İmplantının Deri Altına Uygulanması	48
Resim 3: Rotarod Testi Uygulanması	49
Resim 4: Pole Testinde Parkinson Modeli Oluşturulan Grup	51
Resim 5: Pole Testinde Kontrol Grubu	51
Resim 6: Yüzdürme Testinin Uygulanışı	53
Resim 7: Yüzdürme Testinin Kayıt Altına Alınması	54
Resim 8: Bregma Noktasının İşaretlenmesi	56
Resim 9: Bcl-2 ve Kaspaz-3 ELISA Kitleri	58
Resim 10a: Kontrol Grubu; Normal Beyin Dokusu, HE, Bar= 100 μ m	71
Resim 10b: Overektomii Grubu; Beyin Dokusu Substantia Nigra Bölgesi, Hücresellikte Azalma, HE, Bar= 100 μ m.	71
Resim 10c: Parkinson Grubu; Substantia Nigra Bölgesi, Santral Kromatoliz (ok) ve Nöron Sayısında Azalma, HE, Bar= 100 μ m.	72
Resim 10d: Parkinson+Östrojen Grubu; Substantia Nigra Bölgesi, Nöronofaji (ok) ve Nöron Sayısında Azalma, HE, Bar= 100 μ m.	72
Resim 11a: Kontrol Grubu; Substantia Nigra Bölgesi, İmmunpozitif Hücreler, IHC, Bar= 200 μ m.	75
Resim 11b: Ovariohistektomi Grubu; Substantia Nigra Bölgesi, İmmunpozitif Hücre Sayısında Azalma, IHC, Bar= 200 μ m.	75
Resim 11c: Parkinson Grubu; Substantia Nigra Bölgesi, İmmunpozitif Hücre Sayısında Kontrol Grubuna Kıyasla Belirgin Azalma, IHC, Bar= 200 μ m.	76
Resim 11d: Parkinson+Östrojen Grubu; Substantia Nigra Bölgesi, Parkinson Grubuna Kıyasla Daha Fazla Sayıda İmmunreaktif Hücre, IHC, Bar= 200 μ m	76
Resim 12a: Kontrol Grubu, Striatum Bölgesi, Nöronal Fibrillerde İmmunpozitif Reaksiyon, IHC, Bar= 200 μ m.	77
Resim 12b: Overektomii Grubu, Striatum Bölgesi, Nöronal Fibrillerde İmmunpozitif Reaksiyon, IHC, Bar= 200 μ m.	77

- Resim 12c:** Parkinson Grubu, Striatum Bölgesi, Nöronal Fibrillerde İmmunpozitif Reaksiyon, IHC, Bar= 200 µm. 78
- Resim 12d:** Parkinson+Östrojen Grubu, Striatum Bölgesi, Nöronal Fibrillerde İmmunoreaktivite, IHC, Bar= 200 µm. 78
- Resim 13a:** Kontrol Grubu; Beyin Dokusu, Caspase 3 İmmun Pozitif Boyanma Gözlenmemektedir, IHC, Bar= 50 µm. 79
- Resim 13b:** Overektomii Grubu; Beyin Dokusu, Caspase 3 İmmun Pozitif Boyanma Gözlenmemektedir, IHC, Bar= 50 µm. 79
- Resim 13c:** Parkinson Grubu; Beyin Dokusu, Nöron (ok), Nöroglial Hücreler (ok başı) ve Nöroglial Fibrillerde (yıldız) Caspase 3 Pozitif Boyanma, IHC, Bar= 50 µm. 80
- Resim 13d:** Parkinson+Östrojen Grubu; Beyin Dokusu, Nöron (ok) ve Nöroglial Uzantılarda (yıldız) Düşük Yoğunluklu Caspase 3 Pozitif Boyanma, IHC, Bar= 50 µm. 80

TABLOLAR LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1: Hoehn-Yahr Evrelendirme Ölçeği	4
Tablo 2: Parkinson hastalığında motor ve non-motor semptomlar	5
Tablo 3: Davranış Testleri	17
Tablo 4: Apoptosisin Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri	25
Tablo 5: Deney Grupları ve Yapılan Uygulamalar	42
Tablo 6: Primer Antikorlar ve Dilüsyon Oranları	60
Tablo 7: Çalışma Gruplarında Rotarod Testi Bulguları	61
Tablo 8: Çalışma Gruplarında Pole Testi Dönüş ve İniş Süreleri Dağılımları	63
Tablo 9: Çalışma Gruplarında Yüzdürme Testi Bulguları	65
Tablo 10: Çalışma Gruplarında SN ve STR Kaspaz-3 Bulguları	67
Tablo 11: Çalışma Gruplarında SN ve STR Bcl-2 Bulguları	69
Tablo 12: Çalışma Gruplarında Striatum Boya Alan Bölge Oranı Verileri	74

GRAFİK LİSTESİ

	Sayfa No
Grafik 1: Çalışma Gruplarında Rotarod Testi Sonuçları Grafik Çizelgesi	62
Grafik 2: Çalışma Gruplarında Pole Testi Dönüş Süresi	63
Grafik 3: Çalışma Gruplarında Pole Testi İniş Süresi	64
Grafik 4: Çalışma Gruplarında Yüzdürme Testi Bulguları	65
Grafik 5: Çalışma Gruplarında STR Kaspaz-3 Bulguları	67
Grafik 6: Çalışma Gruplarında SN Kaspaz-3 Bulguları	68
Grafik 7: Çalışma Gruplarında SN Bcl-2 Bulguları	69
Grafik 8: Çalışma Gruplarında STR Bcl-2 Bulguları	70
Grafik 9: Çalışma Gruplarında Striatum Boya Alan Bölge Oranı	74

Rotenon ile Deneysel Olarak Oluşturulmuş Parkinson Modelinde Östrojenin Etkisi

ÖZET

Parkinson hastalığı, beynin substansia nigra (SN) bölgesindeki dopaminerjik nöronların kaybı ve ilerleyici motor yetmezlik ile karakterizedir. Parkinson hastalığı kadınlarda görülme sıklığı özellikle menapozdan sonra fazla olması akla östrojenin etkisinin varlığını getirmekte ve bununla ilgili yapılan çalışmalar da bu görüşü desteklemektedir. Bu çalışmada Rotenon ile deneysel olarak oluşturulmuş parkinson modelinde östrojenin etkisinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada toplam 32 adet 4-6 aylık, ortalama 190-250 gr ağırlığında, dişi Wistar Albino sıçan kullanılmış ve her bir grupta 8 sıçan olacak şekilde 4 grup oluşturulmuştur. Gruplardaki tüm hayvanlar ad-libitum olarak beslendi. Kontrol grubu hariç tüm deney gruplarına overektomi yapılmıştır. Kontrol ve overektomi grubuna hiçbir medikal uygulama yapılmamıştır. Parkinson grubuna, 1, 2, 3, 4, 6, 9, 12, 15, 18 ve 21 günlerinde 2,5 mg/kg dozunda subkutan olarak rotenon uygulandı, Parkinson+östrojen grubundaki hayvanlara ise Parkinson grubunda olduğu gibi rotenon uygulandı ve ek olarak subkutan olarak östrojen (0,5 mg 17 β -estradiol içeren 21 gün etkili implant) verildi. Çalışma sonrasında sıçanlara rotarod, pole ve yüzdürme testleri uygulandı ve daha sonra sakrifiye edilen dokulardan histopatolojik ve biyokimyasal analizler yapıldı. Elde edilen verilere göre Parkinson grubu ile diğer gruplar arasında rotarod, pole ve yüzdürme testlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendi ($p<0,05$). Histopatolojik bulgularda ise Parkinson ile Parkinson+östrojen grubu arasında TH ile boyanan hücrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,05$). Biyokimyasal olarak, Parkinson ve Parkinson+östrojen grubu arasında striatum (STR) ve SN'de Kaspaz-3 aktivasyonunda önemli fark tespit edildi. Fakat SN'de Bcl-2 istatistiksel fark gözlenirken STR'de gözlenmemiştir($p<0,05$). Sonuç olarak; östrojenin Parkinson hastalığı ile ilişkili bozukluklar üzerinde azaltıcı etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Parkinson hastalığı, Östrojen, Kaspaz-3, Bcl-2, Rotenon

Effect of Estrogen on Parkinson Model Experimentally Induced by Rotenone Application

ABSTRACT

Parkinson's disease is characterized by loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra (SN) region of the brain and progressive motor failure. The frequency of Parkinson's disease in women, especially after menopause, suggests the effect of estrogen. This view has already gained support from studies conducted so far. This study is aimed to investigate the effect of estrogen in an experimental parkinson model induced by Rotenone. A total of 32 Wistar Albino rats of both gender, weighing between 190 and 250 g were used in the study. Animals were equally allocated into four groups; 8 rats each group. All animals in each group were given food and water ad libitum. The experimental group underwent ovariectomy except for control group. The control and ovariectomy group received no medication. The parkinson group received rotenone subcutaneously at the dose of 2.5 mg/kg bw, on the days of 1,2,3,4, 6, 9, 12, 15, 18 and 21, animals in the parkinson plus estrogen group received rotenone as in the Parkinson group and was additionally subcutaneously given estrogen (implant containing 0.5 mg 17 β -estradiol lasting for 21 days). Rats were subjected to rotarod, pole and swimming tests at the end of experiment and then histopathological and biochemical analyses were then performed on the tissues that were sacrificed. The result disclosed that there was a statistically significant difference between the Parkinson group and the other groups ($p < 0,05$) in terms of rotarod, pole and swimming tests. On histopathological examination, a statistically significant difference in TH-stained cells between the Parkinson plus estrogen group and the parkinson group ($p < 0,05$). The biochemical analyses of Caspase-3 activation in SN and STR was significantly different between the Parkinson plus oestrogen group and the parkinson group but this difference was not observed in STR ($p < 0,05$) when evaluating Bcl-2. The results of this study suggest that estrogen may have a reducing effect on disorders associated with Parkinson's disease.

Key words: Parkinson's disease, Estrogen, Caspase-3, Bcl-2, Rotenone

1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

1.1. Parkinson Hastalığı

Parkinson hastalığı ilk kez 1817'de bir tıp doktoru olan James Parkinson tarafından “eylemsiz ve desteklendiğinde bile daha az kas gücü ile birlikte istemsiz titreme hareketi” olarak tanımlanmıştır (Parkinson 2002). Parkinson hastalığı, yaygın nörodejeneratif hareket bozukluğu olup, yaş en büyük risk faktörü olmakla beraber 65-69 yaş arasındaki nüfusun %0,5-1'ini etkilerken 80 yaşın üzerindeki nüfusun %1-3'ünü daha çok etkilemektedir (De Lau ve Breteler 2006, Toulouse ve Sullivan 2008).

Parkinson hastalığı, substantia nigra pars kompakta içinde bulunan dopamin üreten nöronların progresif kaybıyla karakterize olan ve bunun sonucunda striatum içindeki dopaminin de tükenmesiyle şekillenir. Bu durum dopamin eksikliği ile ekstrapiramidal fonksiyonda anormalliğe neden olur (Loonam ve ark. 2003, Centonze ve ark. 2004) ve kontrol edilemeyen motor davranışsal bozukluklar, postural dengesizlik, sertlik (Lotharius ve Brundin 2002) ve bradikinezi (Recchia ve ark. 2004) durumları ortaya çıkar.

Motor fonksiyonundaki azalmaya ek olarak, hastalarda uykusuzluk, otonomik disfonksiyon, hipozmik, depresyon ve demans bulgularının da görüldüğü bilinmektedir (Aarsland ve ark. 2005, Petit ve ark. 2014). Bu klinik semptomların başlangıcı, substansia nigradaki dopaminerjik nöronların yaklaşık %50'sinde ve striatumdaki dopamin konsantrasyonunun %80'inde meydana gelen kayıplardan sonra oluşmaktadır (Toulouse ve Sullivan 2008).

Diğer bir anahtar belirteç ise, etkilenen beyin sapı bölgelerinin tümünde ve özellikle vagusun dorsal motor çekirdeğinde yer alan, ubikuitin veya a-sinüklein-pozitif nöronal nöritlerin dejenerasyonunun varlığıdır. Bu dejenerasyonun ilerlemesi sonucunda ise intrasitoplazmik Lewy cisimcikleri ve distrofik Lewy nöritlerin ortaya çıktığı belirtilmiştir (Agid 1991, Lang ve Lozano 1998, Jellinger 2012) .

Mitokondri ve Parkinson hastalığı arasındaki bağlantı ilk olarak 1979 yılında, bir üniversite öğrencisi eroin analog 1-metil-4-fenil-4-propionoksidipiperidini (MPPP)

sentezlemeye teşebbüs ettikten sonra kazara 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) ile kontamine olmuş ilacı kendi kendine uygulaması sonucunda Parkinsonizm benzeri belirtiler rastlanmasıyla tespit edilmiştir (Davis ve ark. 1979). Bu etki, yasadışı uyuşturucu kullanıcısı genç bir grubun, MPTP ile kontamine olan MPPP'nin intravenöz uygulanmasını takiben progresif Parkinson belirtileri geliştirdiği 1982'de tekrar gözlemlenmiştir (Dauer ve Przedborski 2003, Toulouse ve Sullivan 2008).

Araştırmalara göre MPTP'nin, 1-metil-4-fenilpiridinyum (MPP⁺) içine oksidize edildiği takdirde kan-beyin bariyerini kolayca geçebileceği gösterilmiştir (Cohen ve ark. 1984). Yapı olarak dopamine benzerliğinden dolayı MPP⁺, dopamin taşıyıcısı tarafından alınarak elektron taşıma zincirinin kompleks I (nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) -ubinokuin oksiredüktaz) aktivitesinin inhibe edilmesine ve sonuç olarak hücre ölümüne yol açar (Bové ve Perier 2012, Valadas ve ark. 2014).

Ayrıca yapılan deneysel çalışmalarda, MPTP ve diğer mitokondriyal fonksiyon inhibitörlerinin (pestisit, rotenon), Parkinson hastalığında gözlenen davranışsal defisitler, nigrostriatal dejenerasyon ve protein agregasyonu dahil olmak üzere Parkinson belirtilerinin çoğunu ortaya çıkardığı belirtilmiştir (Vila ve ark. 2000, Alam ve Schmidt 2002, Greenamyre ve ark. 2003, Sathiyaraj ve ark. 2013).

Parkinson hastalığının spesifik etiyojisi halen bilinmemektedir, ancak hastalığın gelişimiyle bağlantılı bazı genetik ve çevresel faktörler vardır. Son yıllarda, parkin, alfa-sinüklein (amiloid öncülünün A4 olmayan bileşeni; SNCA), PARK7 (DJ-1), fosfatase ve tensin homologu (PTEN) ile indüklenen kinaz 1 (PINK1) ve dardarin (lösin bakımından zengin tekrar kinaz 2; LRRK2) dâhil olmak üzere birçok nedensel monogenetik mutasyon keşfedilmiştir (Gilks ve ark. 2005, De Lau ve Breteler 2006, Lev ve ark. 2006). Bununla birlikte, vakaların sadece küçük bir yüzdesi (%5-10) kalıtsal genetik mutasyonların sonucunda şekillenmiştir (Dauer ve Przedborski 2003). Geri kalan %90'lık grup sporadik veya idiopatik olarak adlandırılır. Ancak yapılan çalışmalara göre siyanür, eser metaller ve organik çözücüler gibi eksojen toksinlerin ve pestisitler ile herbisitlere maruz kalmış çevresel faktörlerin Parkinson hastalığının oluşum riskini arttırdığı gösterilmiştir (Drechsel ve Patel 2008, Hatcher ve ark. 2008, Chin-Chan ve ark. 2015).

1.1.1. Hastalığın Görülme Sıklığı

Parkinson hastalığı, *ictum* (inme-beyin felci) sonra sakatlığı etkileyen ikinci en yaygın nörolojik bozukluktur (Karlsen ve ark. 2000, Macleod 2004). Hastalık, erkeklerde kadınlara göre çok daha sık görülür, bu da östrojenlerin nöroprotektif etkileri ile açıklanır (Rajput ve ark. 1984, Van Den Eeden ve ark. 2003, Shulman 2007).

Avrupa ülkelerinde Parkinson hastalığı prevalansı yaklaşık 108-257/100.000 ve insidansı ise yılda 11-19/100.000 olarak bildirilmekle beraber ülkeden ülkeye değişiklik göstermektedir. Asya ülkelerinde prevalansı biraz daha düşüktür, prevalansı 51.3-176.9 / 100.000 kişi ve insidans da yılda 6.7-8.7/100.000 kişi arasındadır (Muangpaisan ve ark. 2009). Afrika ülkelerinde ise prevalansı 7-31.4 / 100.000 kişi ve insidansı ise yılda 4.5/100.000 kişi oranları ile (Okubadejo ve ark. 2006) prevalansı ve insidansı en düşük seviyede olan kıtadır.

Prevelans ve insidans oranları sadece 60 yaş üstü grubunda değerlendirildiğinde ise sonuçların oldukça yükseldiği görülmektedir. Avrupa'da prevalans oranı 1280-1500/100.000 kişi ve insidans oranı ise 346/100.000 kişi olarak tespit edilmiştir (Von Campenhausen ve ark. 2005). Baldareschi ve ark. (2000) sadece 65-84 yaşlarındaki kişiler çalışma gruplarına dâhil edildiğinde ortalama yıllık insidans oranını 346/100.000 olarak bulmuşlardır (Baldareschi ve ark. 2000).

Türkiye'de ise Durmuş ve ark. (2015) yapmış oldukları çalışmada 26.991 nüfuslu Başkale ilçesinde Parkinson hastalığı için tarama yapmışlar ve prevalans oranını 202/100.000 olarak belirlediklerini bildirmişlerdir (Durmuş ve ark. 2015).

1.1.2. Tanı Kriterleri

Parkinson hastalığı, nispeten seçici nigrostriatal dopaminerjik dejenerasyonla karakterize, yaşa bağlı nörodejeneratif bir hastalıktır. Parkinson hastalığının ilk belirtileri, dopamin üretiminin %20'sinin altına düştüğü durumlarda veya substantia nigra hücrelerinin %50'si yok olduğunda ortaya çıkar (Roth ve ark. 1999).

Tanı kriterleri, Parkinsonlu hastaların yaşam kalitesi (QoL) üzerinde etkisi olan fiziksel ve zihinsel belirtileri de içerir (Damiano ve ark. 1999, Macphee ve Stewart 2006).

Hastalar Hoehn-Yahr Evrelendirme Ölçeği (HYE) kullanılarak sınıflandırılmaktadır ve bu sınıflandırma tablo 1'de gösterilmektedir (Hoehn ve Yahr 1967):

Tablo 1: Hoehn-Yahr evrelendirme ölçeği (Hoehn ve Yahr 1967).

Evreler	Klinik Belirti
Evre 0	Klinik hiçbir belirti olmaması
Evre 1	Tek taraflı tutulma
Evre 2	İki taraflı tutulma
Evre 3	Postüral reflekslerin bozulması ya da dengesizlik, düşme görülmesi
Evre 4	Tamamen ilerlemiş klinik tablo
Evre 5	Tekerlekli sandalye veya yatağa bağımlı olma

Hoehn-Yahr Evrelendirme Ölçeğine göre 1 ve 2. evredeki hastalar erken, 3 ve 5. evredeki hastalar ise ileri evre olarak tanımlanmaktadır (Hoehn ve Yahr 1967).

Hastalığın tremor, rijidite, bradikinezi ve Postural dengesizlik olarak sıralandırılan dört ana klinik semptomu vardır: (Roth ve ark. 1999). Parkinson hastalığının en önemli fiziksel semptomları arasında boş bir bakış ("Parkinson maskesi") ve el becerisi ile ilgili sıkıntılar bulunur (Simons ve ark. 2006).

Hastalığın nonmotor semptomları arasında ise depresyon, uyku bozuklukları, halüsinasyonlar ve deliryum (bilinç değişikliğine dikkat, algı, düşünce, bellek, duygudurum ve uyku-uyanıklık döngüsü bozuklukları) sayılabilir; bunlardan bazıları dopaminerjik ilaçlarla tedaviye bağlı olabileceği ifade edilmiştir (Cole ve ark. 1996, Papapetropoulos ve Mash 2005, Pezzoli ve Zini 2010). Tablo 2’ de motor ve non-motor semptomlar gösterilmektedir (Dubayova 2010).

Tablo 2: Parkinson hastalığında motor ve non-motor semptomlar (Dubayova 2010).

Motor	Non-motor semptomlar
Tremor (Titreme)	Duygu durum bozuklukları: Depresyon, kaygı ve ilgisizlik
Rijidite (Katılık)	Biliş: Bradifreni, bunama
Bradikenizi (Hareket Bozukluğu)	Uyku bozuklukları: Uyku fragmantasyonu, REM uyku bozuklukları, aşırı gündüz uyku hali, değişmiş uyku-uyanıklık döngüsü
Postural dengesizlik (Duruş Bozukluğu)	Otonom bozukluklar: Hipotansiyon, kabızlık, detrusor dissinerjisi, cinsel işlev bozukluğu, sebore, terleme

1.1.3. Tedavi Metotları

Transplantasyon ile kaybedilen dopamin nöronlarının değiştirilmesine dayanan hücre bazlı tedaviler gelişmesine rağmen, Parkinson hastalığı hala tedavi edilemeyen bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Roth ve ark. 1999, Dunnett ve ark. 2001). Tedavinin, “bekle ve gör” politikasından tanıyı belirledikten hemen sonra ilaç tedavisine başlamaya kadar çeşitli yaklaşımları vardır, ancak şu ana kadar nörologlar tedavi konusunda fikir birliğine ulaşamamışlardır (Grosset ve ark. 2007). Bununla beraber Parkinson hastalığı tedavi edilmesi henüz mümkün olmasa da son yıllarda semptomatik tedaviler oldukça gelişmiştir.

Parkinson hastalığı için en çok kullanılan semptomatik tedavi, kırk yıldan fazla bir süre önce ortaya konan levodopa (dopamin öncü maddesi, yani kan beyin bariyerini geçip beyinde dopamine çevrilir) olup, tedavinin başlangıcında çoğunlukla etkilidir (Brandt-Christensen ve ark. 2007, Pezzoli ve Zini 2010). Bununla birlikte, levodopanin uzun süre kullanılmasından sonra levodopa kaynaklı diskinezi, motor fleksiyon veya nöropsikiyatrik bozukluklar gibi yan etkiler görülebilmektedir (Pezzoli ve Zini 2010).

Parkinson hastalığı semptomlarının 1970'li yıllardan beri tedavisinde kullanılan bir başka tedavi yöntemi ise, diskinezilerin daha düşük olduğu dopamin agonistleridir. Fakat dopamin kadar yararlı değildir aynı zamanda yan etkileri hakkında halen endişeli sonuçlar bulundurmaktadır (Carr ve ark. 2009). Daha uzun süreli tedavi için levodopa ile birlikte katekol-O-Metil-Transferaz (COMT) inhibitörleri ve adjuvan tedavi için seçici MAO-B inhibitörleri 2006'dan itibaren tedavide etkin olarak kullanılmaktadır. Daha genç hastalarda tedaviye dopamin agonistleri ile başlamayı ve daha sonra diğer antiparkinson ilaçlarıyla birleştirmeyi önerir. Fakat 80' li yaşlarındaki hastalarda levodopa ile başlanması tavsiye edilmektedir (Horstink ve ark. 2006).

Motor fonksiyonların ikincil hasarını yavaşlatmak için ise rehabilitasyon ve fiziksel egzersizlerden yardım alınmaktadır (Roth ve ark. 1999). Yapılan çalışmalarda fizyoterapistlerin ve eğitmenlerin özellikle Parkinson hastalığında motor bozuklukların nörofizyolojik yönlerini (akinezi, ardışık hareketleri

gerçekleştirememeyi, ritmik hareket bozulmalarını ve hareketlerin öngörülebilirliğinde bozulmaları) dikkate almaları gerektiği belirtilmiştir (Hömberg 1993).

Parkinsonlu hastalarda yaşam kalitesi hakkındaki bilgi, bir nörolog için oldukça önemlidir çünkü uygun kararlar vermesine yardımcı olabilir. Bu nedenle bu hasta grubundaki çalışmaların incelenmesine dikkat etmek ve yaşam kalitelerindeki değişiklikleri gösteren değişkenleri araştırmaya devam etmek önemlidir. Hastaların genel sağlık durumunu iyileştirmek, bağımsızlıklarını ve aktif yaşamlarını sürdürmek nörolojinin zorluklarından biridir (Dubayova 2010).

1.1.4. Yaşam Kalitesine Etkisi

Parkinson hastalığı kendi başına ölümcül bir hastalık değildir ancak ciddi rahatsızlıkları olan kişilerde genel fiziksel ve zihinsel durumlarını ve aynı zamanda hastanın yaşam kalitesini azaltan sosyal işlevlerini etkilemektedir (Karlsen ve ark. 2000, Mylne ve ark. 2009).

Hastalığın başlangıcından yaklaşık 2-5 yıl sonra, Parkinson hastalarının %50'sine düzenli nöroloji ve yoğun rehabilitasyon takibi gerekmektedir (Winter ve ark. 2010). Parkinson hastalığının gün geçtikçe artan prevalansı, topluma, sağlık hizmetlerine, bireysel hastalara ve ailelerine önemli bir ekonomik yük getirmektedir (Whetten-Goldstein ve ark. 1997, Winter ve ark. 2010).

1.1.4.1. Fiziksel Etkisi

Parkinson hastalarının yaşam kalitesinin düşük olması, temel olarak fonksiyonel durum ve hastalık şiddeti ile ilişkilidir ve bu durumlar birçok çalışma tarafından onaylanmış bir gerçektir (Hobson ve ark. 1999, Gómez-Esteban ve ark. 2007, Dubayova ve ark. 2009). 4 yıl boyunca takip edilen Parkinson hastalarında hastalık şiddeti düşük yaşam kalitesi için en önemli faktör olduğu belirtilmiştir (Karlsen ve ark. 1999). Değişen yürüme ve postüral dengesizlik de bu hastaların kötüleşen yaşam kalitesini arttırdığı bildirilmiştir (Behari ve ark. 2005, Gómez-Esteban ve ark. 2007).

1.1.4.2. Sosyal Yaşama Etkisi

Parkinson hastalığı, sosyal yaşamı etkilemektedir, bu da semptomların neden olduğu utanç ve iletişim ile ilgili sorunlardan kaynaklanmaktadır (Van der Bruggen ve Widdershoven 2004). Hastalar, hastalıkla ilişkili büyük sosyal problemlerin sosyal ilişki kaybı, davranış sorunları, ailede gerginlik ve aile içi iletişim sorunları olduğunu belirtmişlerdir (Lee ve ark. 1994).

1.1.5. Parkinson Hastalığı Deneysel Modelleri

Parkinson hastalığı için pek çok deneysel hayvan modeli geliştirildiği bildirilmiştir. Oluşturulan bu modeller; farmakolojik, toksik ve genetik modeller olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (Özsoy 2012).

1.1.5.1. Farmakolojik Modeller

Rezerpin ve alfa-metil-para-tirozin ile oluşturulan bu deneysel modelde amaç dopaminerjik nöronları hızlı ve geri dönüşümlü bir şekilde striatal dopamin kaybı oluşturduğu belirtilmiştir (Carlsson ve ark. 1957, Özsoy 2012). Rezerpin, veziküler monoamin taşıyıcılarını inhibe ederek monoaminlerin (dopamin, noradrenalin ve serotonin) taşınmasını ve sinaptik veziküllerde depolanmasını engellemektedir. Farelere 0,5 mg/kg dozda iki gün ara ile iki defa verildiğinde anlamsız bir biçimde boş ağızda çiğneme reflekslerinin geliştiği gözlemlenmiştir (Araujo ve ark. 2004, Hatip 2010).

Alfa-metil-para-tirozin ise katekolaminlerin sentez basamağındaki hız kısıtlayıcı enzim olan tirozin hidroksilazı inhibe ederek beyinde dopamin kaybına neden olduğu bilinmektedir. Her iki farmakolojik ajan da yalnızca uygulama periyodu süresince devam eden hızlı bir dopamin ve katekolamin kaybı oluşturabilmektedir. İki farmakolojik ajan Parkinson'da görülen nörodejenerasyonu oluşturamamakta fakat Parkinson'un nörokimyasının ilkel bir taklidi olan rezerpin modeli, tedaviye yönelik çalışmalarda günümüzde en çok kullanılan model olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda bu metot sayesinde hastalığın tedavisinde kullanılan L-DOPA terapötik etkinliğini kanıtladığı bildirilmiştir (Carlsson ve ark. 1957, Özsoy 2012).

1.1.5.2. Toksik Modeller

1.1.5.2.1. 6-Hidroksidopamin (6-OHDA) Modeli

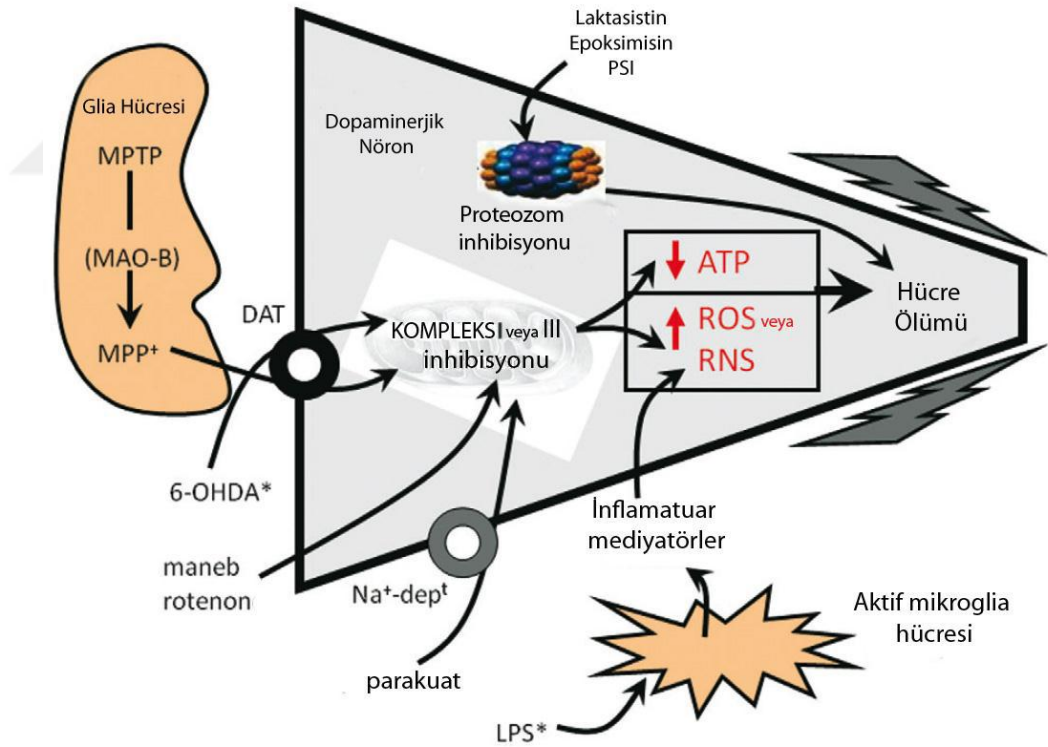
6-Hidroksidopamin kan beyin bariyerine geçememesi nedeniyle doğrudan olarak beyine stereotaksi cihazı (şekil 1) ile enjekte (intraventriküler, intrasisternal ya da intraserebral) edilmesi ile oluşturulan Parkinson modelidir (Jonsson 1983, Hatip 2010, Özsoy 2012). Dopaminin hidroksillenmesi ile oluşturulan 6-OHDA'nın sıçanlara intraserebral yolla uygulanarak nörodejeneratif etki sağlanmasıyla Parkinson modeli oluşturulmaktadır. 6-Hidroksidopamin modeli, yalnızca sıçanlarda değil, fare, kedi, köpek ve maymunlarda da oluşturulmaktadır (Bezard ve ark. 1998). Bu türler arasında bilimsel olarak birbirinden farklı avantaj ve dezavantajları bulunmamaktadır.



Şekil 1: Stereotaksi cihazı (Anonim 1)

6-Hidroksidopamin modeli, çalışmalarda nöronları koruyucu ya da tamir edici özellikleri değerlendirmek açısından oldukça elverişli bir modeldir. Çift taraflı 6-OHDA modelinde, belirgin afazi, adipsi ve krizler nedeniyle deney hayvanlarında sıklıkla ölüm görülmesi nedeniyle tek taraflı olarak 6-OHDA uygulaması “altın standart” olarak kabul edilmektedir. Böylece uygulanmayan diğer hemisfer kontrol olarak kullanılabilir. Uygulamaya başlamadan önce 6-OHDA'nın Noradrenerjik nöronlar tarafından alınmasını önlemek için 30 dk önceden Desipramin 25 mg/kg dozda intraperitoneal olarak uygulanır. Daha sonra 6-OHDA %0,02-0,1 askorbik asit içeren salin içinde içinde 2 uL/icv veya 3.5 (3.9-5.4) µg/µl yoğunluğunda

striatumda mikro enjeksiyon yöntemi ile yapılır (Hatip 2010, Carlsson ve ark. 2005). Enjeksiyon sonrasında 6-OHDA dopamin taşıyıcılar ile dopaminerjik nöronlar tarafından alınır (Şekil 2). Uygulamadan 24 saat sonra dopaminerjik nöronların dejenerasyonu başlar (Jeon ve ark. 1995). Dejenerasyon 1-3 hafta boyunca sürer ve dejenerasyonun seviyesi, Substantia nigra pars kompakta bölgesindeki Nissl-boyanmış hücrelerin veya tirozin hidroksilaz pozitif nöronların sayılarının belirlenmesi ile striatumda ise tirozin hidroksilaz enzim seviyesinin veya dopamin taşıyıcısı immünreaktivitesinin değerlendirilmesi sonucu tespit edilebilir (Cicchetti ve ark. 2002). Davranışsal indeksler yani moris tankı deneyi gibi deneylerde lezyonun büyüklüğünü hakkında bilgi verdiği gözlenmiştir. Sonuç olarak 6-OHDA modeli Parkinson ile birçok yönden benzerlik göstermektedir (Özsoy 2012).

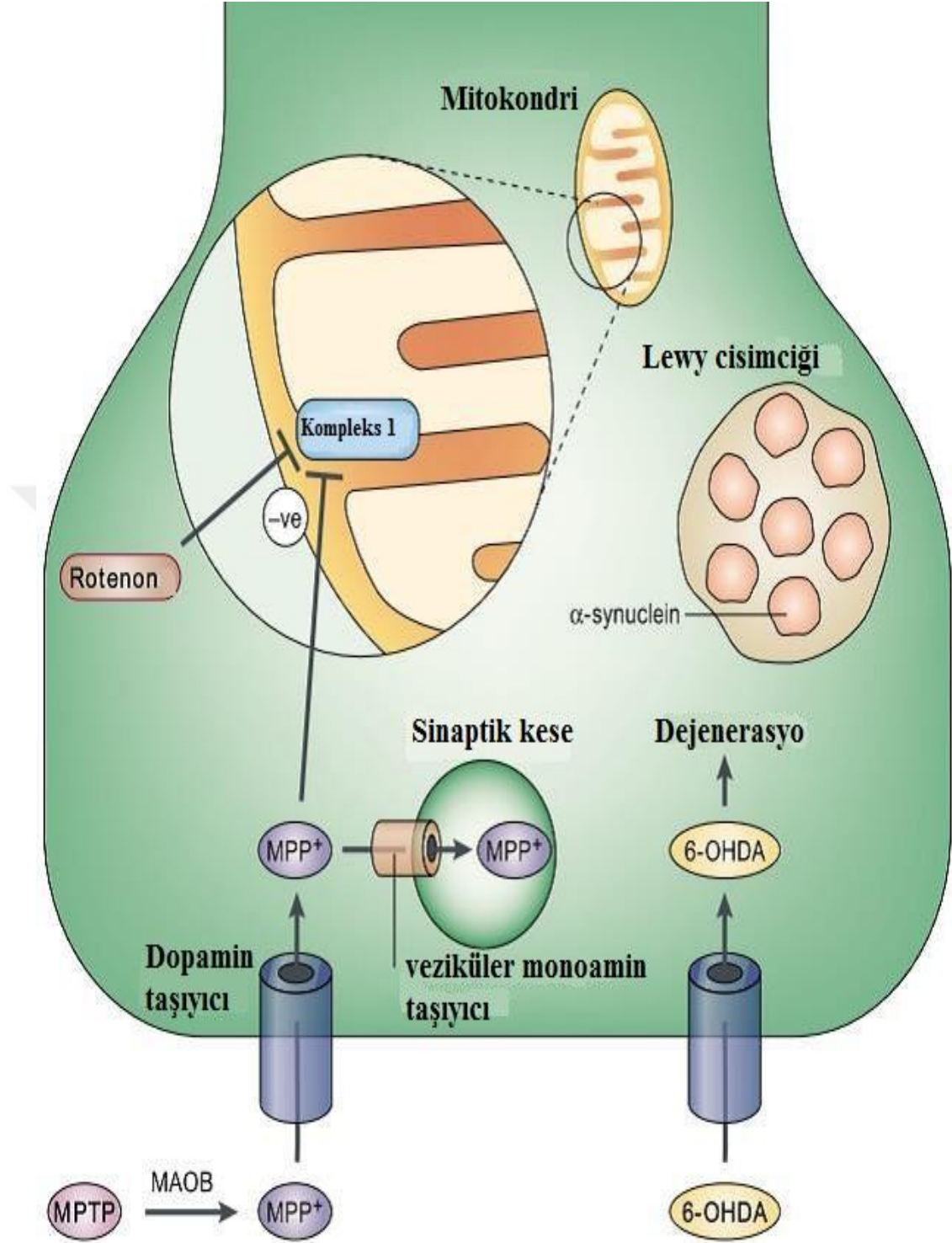


Şekil 2: Deneysel Parkinson oluşturuvcu nörotoksinlerin etki mekanizmaları (Duty ve Jenner 2011).

1.1.5.2.2. 1-Metil-4-Fenil-1,2,3,6-Tetrahidropiridin (MPTP) Modeli

Eroin kullanan bir grup genç, 1982 yılında MPTP ile kontamine olmuş eroini kendilerine enjekte ettikten sonra Parkinson hastalığına benzer bir durum meydana gelmiştir. Buna bağlı olarak bu bileşik hayvan türlerinde denenmiş ve maymunlarda Parkinson hastalığıyla neredeyse aynı klinik ve patolojik durumların gelişmesine sebep olduğu bildirilmiştir (Chiueh ve ark. 1984), farede sadece dopaminerjik nöron dejenerasyonu meydana geldiği (Heikkila ve ark. 1984), sıçanlarda ise bu duruma direnç gösterildiği (Chiueh ve ark. 1984) tespit edilmiştir.

1-Metil-4-Fenil-1,2,3,6-Tetrahidropiridin, 6-OHDA'nın aksine sistemik enjeksiyondan birkaç dakika sonra hızla kan beyin bariyerini geçer. Non-dopaminerjik hücrelerde MPTP astrositler tarafından alınır ve Monoamin oksidaz-B (MAO-B) aracılığıyla MPTP'nin aktif metaboliti 1-metil-4-fenilpiridinyum (MPP^+)'a dönüştürülür (Şekil 2, Şekil 3). MPP^+ hücre dışına salınır ve dopamin taşıyıcılar aracılığı ile dopaminerjik nöronlar tarafından alınır (Mori ve ark. 2005, Hatip 2010). MPP^+ , mitokondri içinde konsantre edilerek elektron taşıma zincirinin kompleks I elemanına bağlanarak onu inhibe eder. Bu nedenle elektron akışı bozulmasıyla düşük adenozin trifosfat (ATP) üretimine ve süperoksit radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna sebep olduğu bildirilmiştir (Şekil 2). Düşük ATP ve yüksek ROS üretiminin bu yolları tetiklediğine dair düşünceler bulunduğu bildirilmektedir (Özsoy 2012). Modeli oluşturmak için farelere 20 mg/kg dozda intraperitoneal olarak günde dört doza bölünerek iki saat ara ile uygulanır. Uygulama intranazal (30-60 mg/kg) olarak da yapılabilir. Uygulama sonrasında akinezi, rijidite ve tremor gözlemlendiği bildirilmektedir. 3-7 gün sonra kuyruktan asma ile hareketsizlik olduğu gözlenir (Mori ve ark. 2005, Hatip 2010).

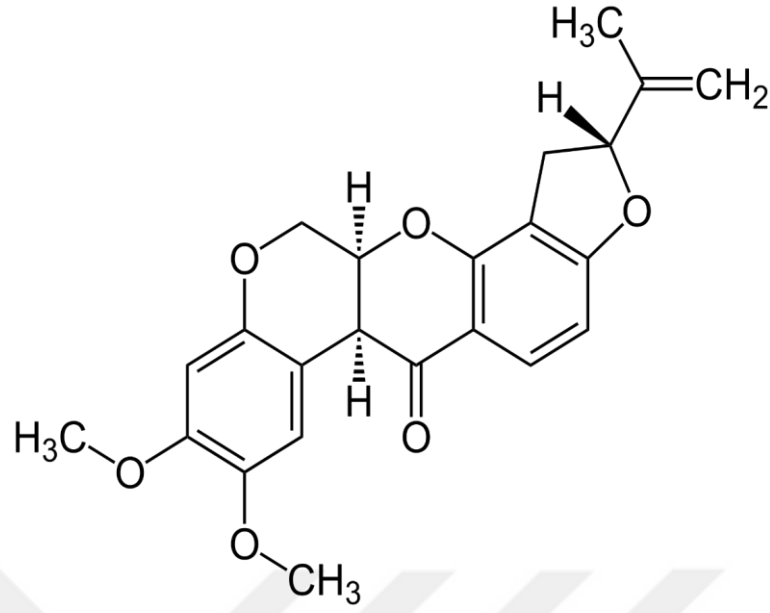


Şekil 3: Deneysel Parkinson modelinde nörotoksinlerin dopamin hüresine etkisi (Beal 2001).

1.1.5.2.3. Rotenon, Parakuat, Manabe ve Metamfetamin Modelleri

Herbisit olarak bilinen rotenon 1990'lı yıllarda Parkinson hastalığını meydana getirdiği bulunmuştur. Lipofilik olan rotenonun kan beyin bariyerini rahatlıkla geçtiği bildirilmiştir. Mitokondri içerisinde biriken rotenon elektron taşıma zincirinin kompleks-I ünitesini (Şekil 3) bloklar (Dauer ve Przedborski 2003, Blandini ve Armentero 2012, Özsoy 2012). Parakuat ve manabe ise yapısal olarak MPP+'ye benzemektedir. Böylece nigrostriatal dopaminerjik nöronları dejenere ettiği belirtilmiştir. Davranışsal olarak hipokinezi (anormal derecede hareketlilik düşüklüğü), fleksiyon, rijidite (kas sertliği) ve titremeye sebep olduğu görülmüştür. Parkinson metodu uygulamasında ise rotenon 10 ug/mL, paraquat 25, 50 ve 75 mg/mL dozda 30 gün süre ile intranasal olarak uygulanır (Hatip 2010). Aynı zamanda rotenon 30 mg/kg dozda oral olarak uygulanabilmektedir (Haytural ve Tüzün 2014). Rotenonun subkutan dozu ise 2,5 mg/kg dozda 10 gün (1-4 ve 6, 9, 12, 15, 18, 21 gün) uygulanarak Parkinson modeli oluşturulmaktadır (Samantaray ve ark. 2007).

Rotenonun (Şekil 4) intraperitoneal uygulaması, Parkinson hastalığının bir modeli olarak kullanılmış, ancak yüksek morbidite ve mortaliteyi içeren zararlı etkileri nedeniyle (Cannon ve ark. 2009, Monti ve ark. 2010), nöroproteksiyonun uzun süreli çalışmaları için uygun olmadığı ifade edilmiştir. Daha önce yapılan bir çalışma, rotenonun akut intranigral enjeksiyonunun birkaç hafta boyunca ilerleyen Parkinson semptomları ürettiğini göstermiştir (Saravanan ve ark. 2005). Yapılan bir başka çalışmada, intrastriatal rotenon infüzyon uygulanmasının, nigrostriatal fonksiyonun davranışsal, immünohistokimyasal ve biyokimyasal analizler sonucunda Parkinson hastalığına çok yakın Parkinson modelini oluşturduğu bildirilmiştir (Mulcahy ve ark. 2011).



Şekil 4: Rotenonun Yapısı (Anonim 2)

Parkinson patolojisinde bulunan özelliklerin birçoğu, reaktif oksijen türü üretimi, sistemik mitokondriyal bozulma, mikroglial aktivasyon, α -sinüklein fosforilasyonu, agregasyon ve Lewy patolojisi, seçici nigrostriatal dopaminerjik dejenerasyon, ubiquitin-proteazomal disfonksiyon ve L-3,4-dihidroksifenilalanin (levodopa; L-DOPA) yanıt veren motor defisitleri, tirozin hidroksilaz immünoaktivitesinin tükenmesi, oksidatif hasar gibi bir çok belirti rotenon uygulamasından sonra gözlemlenmektedir (Betarbet ve ark. 2006, Drechsel ve Patel 2008, Cicchetti ve ark. 2009, Norazit ve ark. 2010, Bové ve Perier 2012). Bu etkiler, rotenonun proteazom aktivitesini ve mitokondriyal kompleks I aktivitesini inhibe etme yeteneğinin bir sonucudur (Şekil 3, Blandini ve Armentero 2012). Bu da substantia nigra ve striatum içindeki dopaminerjik nöronların dejenerasyonuna yol açmaktadır (Alam ve Schmidt 2002, Yang ve ark. 2006). Ayrıca, *in vivo* çalışmalar, bu nörotoksinin Parkinson modeli olarak kullanım potansiyelini ortaya koymuştur.

Bir çalışmada, araştırmacılar intranigral rotenon infüzyonunun, nigrostriatal sistemde önemli ölçüde bir tirozin hidroksilaz immünoaktivitesine yol açtığını bulmuşlardır (Norazit ve ark. 2010).

Başka bir çalışmada ise rotenonun intraperitoneal enjeksiyonla uygulandığı zaman Nigrostriatal dejenerasyona ek olarak, dopamin agonisti apomorfine yanıt veren davranışsal defisitlere neden olduğunu ve bu gözlenen eksikliklerin dopamin kaybına spesifik olduğunu düşündürmektedir (Cannon ve ark. 2009). Ne yazık ki, çalışmalarda kullanılan rotenon, ağır kilo kaybı, dehidrasyon, yüksek morbidite ve mortalite gibi önemli yan etkilere sahiptir (Betarbet ve ark. 2000, Sherer ve ark. 2003, Lin ve ark. 2012a, Tasselli ve ark. 2013). Bununla birlikte, bazı çalışmalar rotenonun intrakraniyal infüzyonunun bu bozucu etkilere neden olmadığını ortaya koymuştur. Ancak protein agregasyonu ve Lewy cisimciği formasyonu gibi bazı özellikler henüz farelerde tespit edilmemiştir (Sindhu ve ark. 2005, Saravanan ve ark. 2005, Mulcahy ve ark. 2011, Carriere ve ark. 2014).

Son zamanlarda, farelerde medial ön beyin demetinin tek taraflı olarak infüzyonu sonucu oluşan lezyonlarda, a-sinüklein ve motor disfonksiyonunun aşırı ekspresyonu ile sonuçlandığını bildirilmiştir. Bununla birlikte araştırmacılar nigrostriatal yol boyunca dopaminerjik dejenerasyona dair bir kanıt sunmamışlar ve motor eksikliklerine yönelik herhangi bir nicel sonuç belirtmemişlerdir (Weetman ve ark. 2013).

Sıçanlarda rotenonun intrakranial uygulamasının motor disfonksiyonu ile sonuçlandığı ve nigrostriatal yol boyunca tirozin hidroksilaz (TH) immünoreaktivitesini azalttığı gösterilmiştir (Carriere ve ark. 2014). Bu motor semptomların şiddeti, substantia nigra (SN) 'da TH pozitif dopaminerjik nöronların kaybına bağlı olduğunu düşündürmektedir (Iancu ve ark. 2005).

1.1.5.2.4. Üç-nitrotirosin Modeli

Parkinsonlu hastalarda 3-nitrotirosinin arttığı bildirilmiştir. Buradan yola çıkılarak bu model oluşturulmuştur. Model uygulamasında 3-nitrotirosin intrastriyal olarak enjekte edildiğinde tirozin terminal hücreleri ve substantia nigradaki dopaminerjik nöronların dejenere olması sonucu kaybolmasına sebep olduğu bildirilmektedir (Hatip 2010).

1.1.5.3. Genetik Modeller

Parkinson hastalığı yıllardır genetik tabanlı olmayan, sporadik orijinli bir hastalık olarak bilinse de hastaların %5-10'unda genetik mutasyonlar gözlenmediği bildirilmiştir. Bu modellerin pek çoğunda inklüzyonlar görünmüş fakat güçlü bir nörodejenerasyon gözlenememiştir (Özsoy 2012).

1.1.6. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Motor Aktivite Testleri

Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı ve travmatik beyin rahatsızlığı olmak üzere bir çok merkezi sinir sistemi bozuklukları modellerinde motor bozuklukların değerlendirilmesi için Tablo 3'de verilen davranış testlerinden yararlanılmaktadır (Meredith ve Kang 2006, Brooks ve Dunnett 2009). Genel olarak motor aktivite bozukluklarının beyincik, bazal gangliyon, beyin sapı, motor korteks, omurilik, periferik sinir sistemi veya kas-iskelet sistemi disfonksiyonu dahil olmak üzere periferik ve / veya merkezi kökenli olabileceği bildirilmiştir (Meredith ve Kang 2006, Olveczky 2011, Ploughman ve Kleim 2011).

Tablo 3: Davranış Testleri (Mann ve Chesselet 2015).

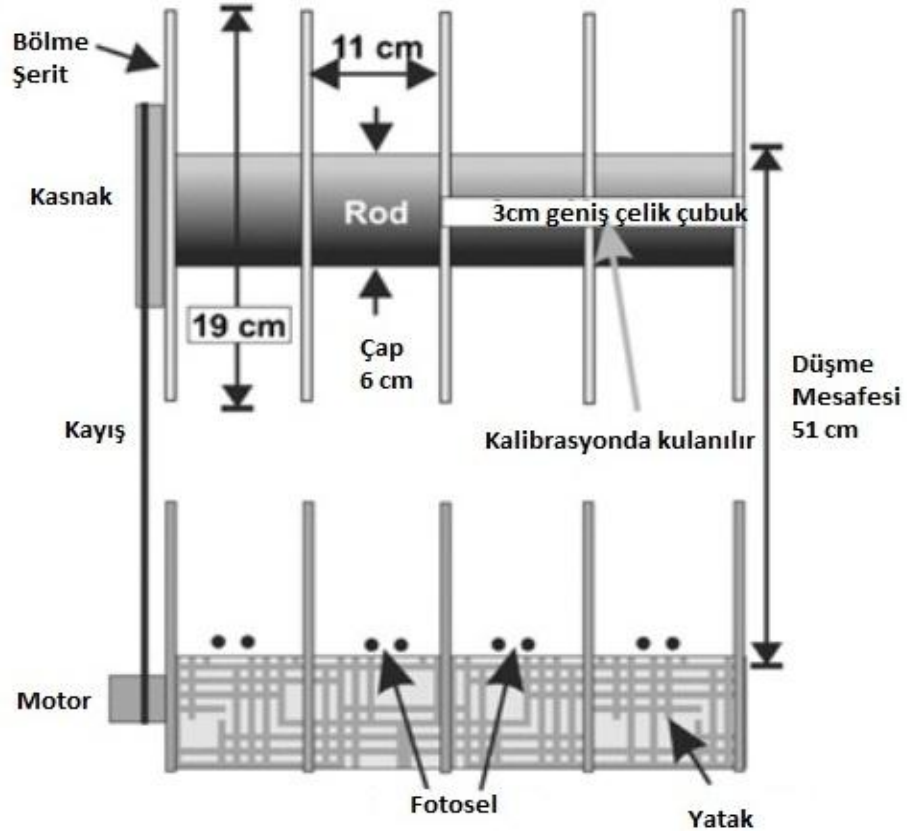
Test	Motor Davranışı	Hayvan	Artıları	Eksileri	Ölçümler	Referanslar
Rotarod	Denge Motor koordinasyon	Fare Sıçan	• Genel olarak kullanılan • Hassas	• Eğitim gerekli • Çoklu denemeler	• Seyahat edilen mesafe • Düşme gecikmesi • Düşüşte hız	Brooks ve Dunnett (2009), Borse ve ark. (2011)
Zorlu ışın	Motor koordinasyon Denge Motor sensörü	Fare Sıçan	• Hassas • L-DOPA ile düzeltilebilir	• Eğitim gerekli • Video kaydı ve değerlendirmesi • Çoklu denemeler	• Hataların sayısı • Hata / adım • Toplam zaman traversi	Fleming ve ark. (2004), Rockenstein ve ark. (2002), Heffeman ve ark. (2013)
Pole	Motor koordinasyon	Fare Sıçan	• Nigrostriatal disfonksiyona duyarlıdır	• Eğitim gerekli • Uzun kavramanın işlevsiz olması durumunda etkili olmaz.	• Tüm zamanlara • Yükselme zamanı	Fleming ve ark. (2004), Cummings ve ark. (2012), Rauch ve ark. (2010)
Ters ızgara	Motor koordinasyon Kavrama gücü	Fare	• Eğitim gerektirmez • Basit	• Video kaydı ve değerlendirmesi • Çoklu denemeler • Hayvan için stresli	• Adım mesafesi • Her adım için ön ayaklar • zamanı taşımak	Richfield ve ark. (2002), Tillerson ve ark. (2002)
Yürüyüş	Motor koordinasyon Yürürken senkronizasyon	Fare Sıçan	• Kolay • Uygun maliyetli	• Eğitim gerekli • Her zaman tedaviler arası farklı değil	• Adım uzunluğu • Taban genişliği • Adımlar arasında değişkenlik • Ön / arka pençelerin üst üste binmesi	Lin ve ark. (2012b), Hamill ve ark. (2012)
Chimney	Motor koordinasyon	Fare Sıçan	• Basit • Kısa (1-5 dk.) • Eğitim gerektirmez		• Belirli bir mesafeyi hareket ettirme yeteneği • Ayarlanmış bir mesafeyi geriye doğru taşıma zamanı	Boissier ve ark. (1960), Dauge ve ark. (2001)
Kuyruktan Asma	Hareketlilik Motor koordinasyon	Fare	• Otomatikleştirilebilir • Basit • Eğitim gerektirmez	• Videoya kaydedilebilir ve derecelendirilebilir • Hayvan için stresli	• Hind / baş uzuv hareketi • Kuyruğa ulaşmak için eğilme girişimleri • Kuyruğa doğru sürünme girişimleri	Stery ve ark. (1985), Haobam ve ark. (2005)
Yapıştırıcı kaldırma	Motor sensörü Ekstremiter tercihi	Fare Sıçan	• Eğitim gerektirmez • Hızlı • Basit		• Dokunma zamanı • Çıkarma zamanı	Fleming ve ark. (2004), Schaar ve ark. (2010)

Tablo 3 (Devam): Davranış Testleri (Mann ve Chesselet 2015).

Açık alan	Lokomotor aktivite Keşif	Fare Sıçan	<ul style="list-style-type: none"> • Otomatik • Eğitim gerektirmez 	<ul style="list-style-type: none"> • Süre (~15 dk / fare) • Odaya alışkanlık • Yaşlara veya modellerde ilerlemeye duyarlı olabilir 	<ul style="list-style-type: none"> • Yatay, spontan aktivite, tımar 	Sedy ve ark. (2008), Lam ve ark. (2011), Popovic ve ark. (2014)
Tekerlekte koşurma	Lokomotor aktivite	Fare Sıçan	<ul style="list-style-type: none"> • Otomatik 	<ul style="list-style-type: none"> • Eğitim gerekli • Habitude gerekli • Oldukça yalıtılmış odalar 	<ul style="list-style-type: none"> • Seyahat edilen mesafe • Koşu hızı • Çalışmaya başlama zamanı 	Hickey ve ark. (2005), Liebetanz ve ark. (2007)
Silindir	Kendiliğinden aktivite Ekstremitte asimetrisi	Fare Sıçan	<ul style="list-style-type: none"> • Basit • Eğitim gerektirmez 	<ul style="list-style-type: none"> • Video kaydı ve değerlendirmesi • Odaya alışkanlık 	<ul style="list-style-type: none"> • Duvar destekli veya serbest duran arma • Ön ayak ve arka ayak adımları • Bakım için harcanan zaman 	Plowman ve ark. (2011), Schallert ve ark. (2000)
Yüzme	Koordineli ekstremitte kullanımı Yüzme yeteneği	Fare Sıçan	<ul style="list-style-type: none"> • Basit • Kısa (1-5 dk.) 	<ul style="list-style-type: none"> • Eğitim ve alışkanlık gerekli • Öznel • Video kaydı ve değerlendirmesi 	<ul style="list-style-type: none"> • Sinking, yüzme veya yüzer • Pençe vuruşları • Yüzme hızı • Platform için süre 	Haobam ve ark. (2005), Deumens ve ark. (2002)
Yeme ulaşma	İyi motor yetenekleri Motor koordinasyon Duyusal motor becerileri Ekstremitte tercihi	Sıçan	<ul style="list-style-type: none"> • Basit 	<ul style="list-style-type: none"> • Gıda kısıtlaması • Habitude gerekli • Eğitim gerekli • Video kaydı ve değerlendirmesi 	<ul style="list-style-type: none"> • Görev tamamlama zamanı • görevi tamamlamak için girişimleri • Cevapsız / düşmüş tedavi • Kontra- veya ipsi lateral pençenin kullanımı 	Karl ve ark. (2005), Schaar ve ark. (2010)
Yuva yapma	İyi motor yetenekleri	Fare	<ul style="list-style-type: none"> • Basit • Eğitim gerektirmez 	<ul style="list-style-type: none"> • Tek konut 	<ul style="list-style-type: none"> • Kullanılan pamuk yüzdesi 	Fleming ve ark. (2004)
Kavrama gücü	Kas gücü	Fare Sıçan	<ul style="list-style-type: none"> • Kolay • Otomatik • Eğitim gerektirmez 	<ul style="list-style-type: none"> • Dopamindeki striatal değişiklikleri saptamayacak kadar hassas değildir 	<ul style="list-style-type: none"> • Ön ayakların gücü • Arka ayakların gücü 	Lorivel ve ark. (2007), Kuber ve Thaakur (2011), Gupta ve ark. (2014)
Ön pençe adımı	Akinezi	Fare Sıçan	<ul style="list-style-type: none"> • Basit • Eğitim gerektirmez 	<ul style="list-style-type: none"> • Testten önce hayvanı kullanma 	<ul style="list-style-type: none"> • Pençe ayarlamasının sayısı 	Meredith ve Kang (2006)
Katalepsi	Kas sertliği Akinezi	Fare Sıçan	<ul style="list-style-type: none"> • Hızlı • Basit • Eğitim gerektirmez 	<ul style="list-style-type: none"> • Her zaman etkili değil • Testten önce hayvanı kullanma 	<ul style="list-style-type: none"> • Arka ayakları veya ön ayakları yere indirmek için gecikme süresi 	Richter ve ark. (2007), Haobam ve ark. (2005)

1.1.6.1. Rotarod Testi

Rotarod testi (Şekil 5) uygulamak için özel bir eğitim gerektirmediği için, deney hayvanlarında motor koordinasyonu ve dengesini test etmek için en yaygın kullanılan araçlardan biridir. Bununla birlikte, duyarlılığı etkilenen nöronal sistemlere bağlı olarak büyük ölçüde değişiklik gösterir. Bu test, farelerin veya sıçanların dönen bir çubuk üzerinde dengede durmasını gerektirir ve düşme zamanları ölçülerek kaydedilir. Sıçanlar veya fareler, bir denemede farklı deneyler için (genellikle dengeleyebildiği en yüksek hız) 5 dakikalık bir sürede 0'dan 40 rpm'ye kadar kademeli olarak hızlandırılmış bir hızda test edilebilir (Brooks ve Dunnett 2009, Borse ve ark. 2011). Yorgunluğun, hızlanan çubuktan elde edilen sonuçları etkilediği düşünülse, çubuğun sabit bir hızda dönmesi ile düşme gecikmesinin, motor koordinasyonunu ve dengeyi etkileyen biyolojik değişikliklere karşı daha duyarlı olduğu düşünülmektedir (Monville ve ark. 2006). Ayrıca, pürüzsüz veya yivli çubuklar testin duyarlılığını etkileyebilir ve bir deney tasarlarken veya farklı çalışmalarda sonuçları karşılaştırarak değerlendirilmelidir (Hickey ve Chesselet 2011).



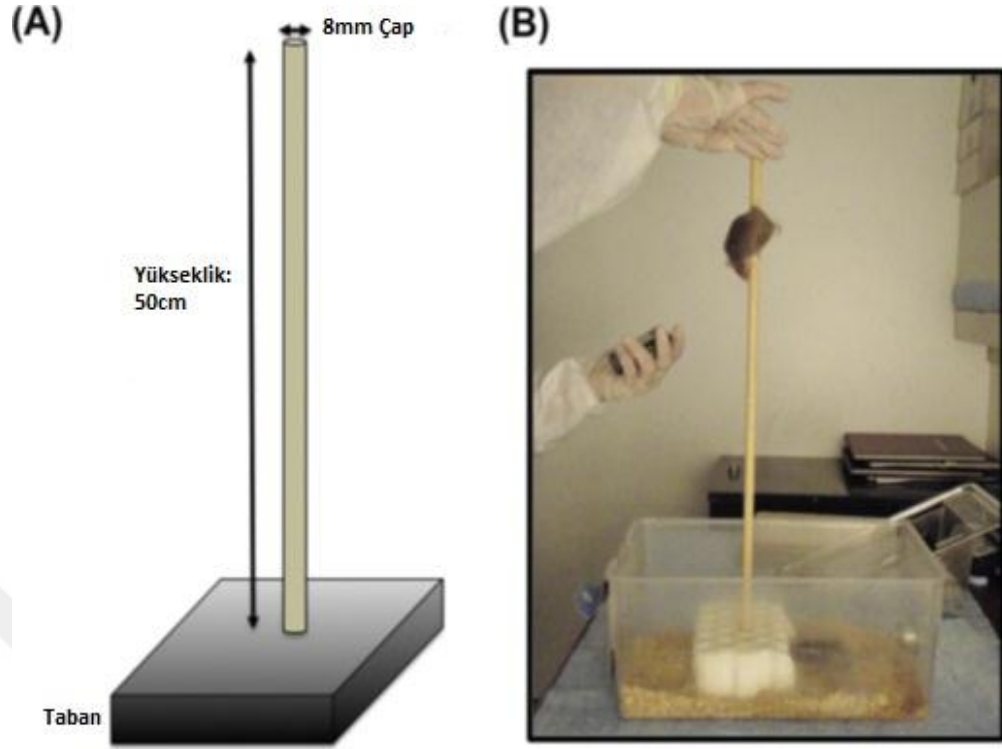
Şekil 5: Rotarod Testi Mekanizması (Bohlen ve ark. 2009).

Rotarod mekanizması ile tespit edilen bozukluklar, serebellar veya omurilik fonksiyon bozukluğu olan hayvanlarda özellikle önemli olduğu bildirilmiştir . Bu durumda kullanılan en duyarlı test olmasa da, bazal ganglion disfonksiyonu modellerinde rotarod performansındaki değişiklikler tespit edilebilir (Hickey ve Chesselet 2011). Rotarod defisitleri Parkinson hastalığı modellerinde “nondopamin bağımlı” motor davranış olarak sınıflandırılır çünkü nigrostriatal dopaminerjik kayıptan önce veya kayıp meydana gelmeden ortaya çıkabilirler (Magen ve Chesselet 2010, Hickey ve Chesselet 2011).

Substantia nigra ve striatum gibi dopaminerjik bölgelerden ziyade, baskın birikimi veya korteks ve omurilikte a-sinüklein patolojisi gösteren a-sinüklein aşırı ekspresyonu modellerinde gözlenir (Hickey ve ark. 2005). Önemli olarak, bu test, Amiyotrofik Lateral Skleroz (ALS), serebellar ataksi, travmatik beyin hasarı ve inme de dahil olmak üzere birçok hayvan modelinde üretilen sensorimotor bozuklukları doğru olarak ölçebilir (Hamm ve ark. 1994, Fujimoto ve ark. 2004, Schaar ve ark. 2010, Adwanikar ve ark. 2011)

1.1.6.2. Pole Testi

Pole testi ile kafesine inmek için farenin veya sıçanın bir çubukta kavrama ve manevra kabiliyeti değerlendirir (Şekil 6). Bu test daha önce farelerde bazal gangliyonla ilişkili hareket bozukluklarını değerlendirmek için kullanılmıştır (Ogawa ve ark. 1985, Ogawa ve ark. 1987, Matsuura ve ark. 1997, Sedelis ve ark. 2001, Fernagut ve ark. 2003, Fleming ve ark. 2004). Parkinson hastalığı farelerde ve sıçanlarda çubukta dönme ve inme hareketi daha uzun sürdüğü bildirilmektedir (Ogawa ve ark. 1985, Ogawa ve ark. 1987, Matsuura ve ark. 1997, Mann ve Chesselet 2015).



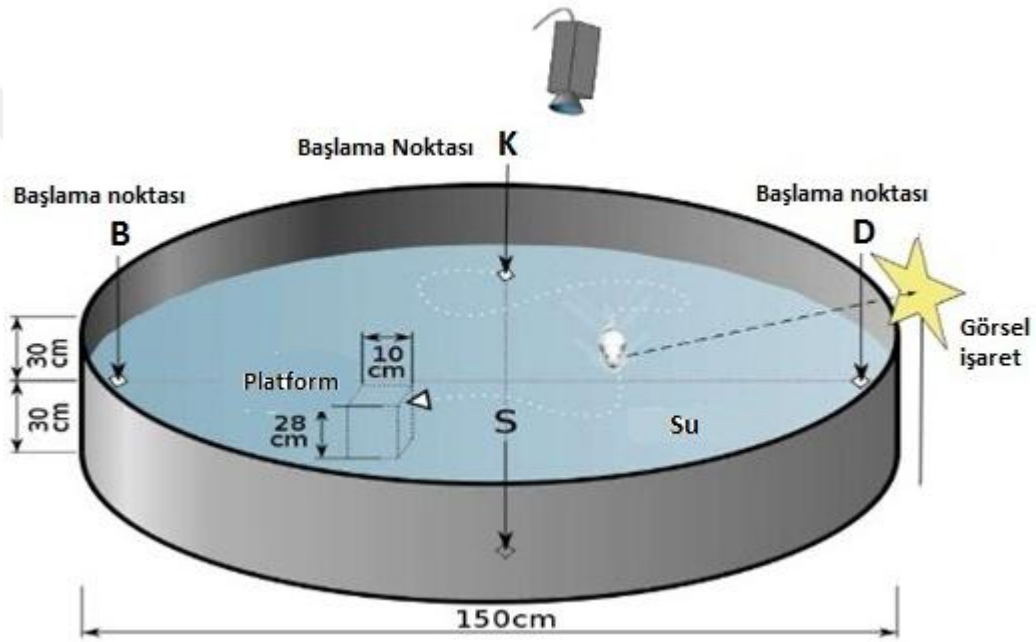
Şekil 6: Pole testi. (A) bir taban üzerinde stabilize 50 cm uzunluğunda ahşap çubuk. (B) Test sırasında farenin yukarı çıkmasını önlemek için çubuğun üstten tutulması (Mann ve Chesselet 2015).

1.1.6.3. Yüzdürme Testi

Bu test yaygın olarak antidepresanların etkinliğini test etmek için kullanılmasına rağmen, hayvan modellerinde bazı çalışmalarda motor defisitleri değerlendirmek için kullanılmıştır (Schaar ve ark. 2010). “Davranışsal umutsuzluğu” ve motor davranışları ölçmek için yüzme ve keşif kullanılabilir (Brooks ve Dunnett 2009, Porsolt ve ark. 1977). MPTP ve 6-OHDA ile oluşturulan Parkinson modelleri kontrollerle kıyaslandığında daha düzensiz oldukları belirtilmiştir (Deumens ve ark. 2002, Haobam ve ark. 2005).

Küçük, şeffaf ve 60 cm yüksekliğe sahip bir pleksiglas konteyner (dikdörtgen veya dairesel), 30 cm'ye kadar 23–27°C su ile doldurulur. Görünür bir kaçış platformu içerir (Şekil 7, Morris 1983).

Lokomotor ölçümüne dayanan test, yüzme sırasında koordine bacak kullanımının değerlendirilmesini içerir. Bu testte, hayvan ardışık iki gün boyunca berrak bir tank içinde görünür bir kaçış platformuna yüzmek üzere eğitilmiştir. Test günlerinde, üç beş yüzme denemesi, daha sonraki analizler için video olarak kaydedilir (Haobam ve ark. 2005, Kleim ve ark. 2007). Bulgular arasında sol-sağ ön pençe ve arka pençe vuruşlarının sayısı, yüzme hızı, platforma ulaşma süresi ve test sırasında ortaya çıkabilecek koordine olmayan davranışlar kaydedilerek değerlendirilir (Haobam ve ark. 2005, Karuppagounder ve ark. 2012).



Şekil 7: Yüzdürme Testi (Morris 1983)

1.2. Hücre Ölümü

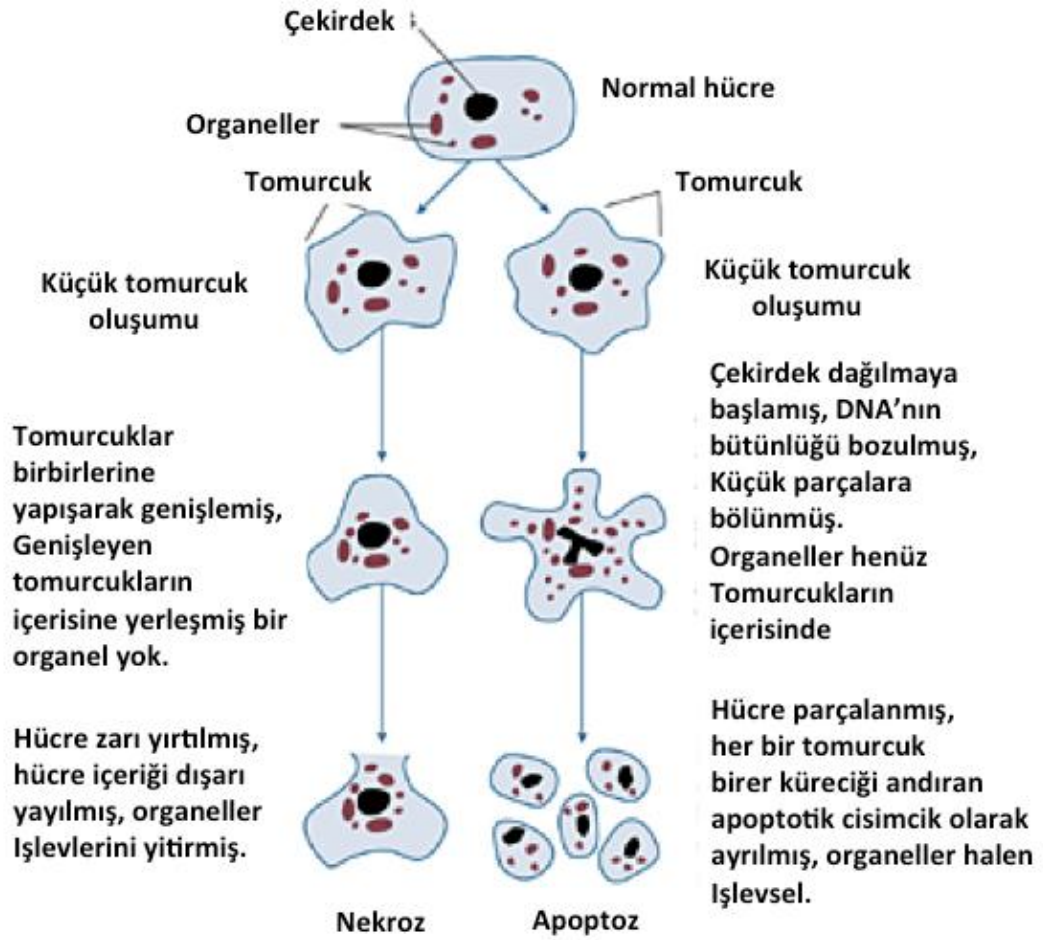
Çok hücreli organizmalarda, doku bütünlüğünün korunması ve organ fonksiyonunun oluşturulması için hücre büyümesi ve ölümünün dinamik bir etkileşim halinde bulunması gerekmektedir. Organizmaların iç ortamlarında göreceli bir denge durumu elde etmek için sıkı kontrol edilen homeostatik süreçler bulunmaktadır. Bunlar organizmanın hayati parametreleri stabilize etmesini ve temel işlevleri gerçekleştirmesini sağlar. Çok hücreli organizmalarda hücresel dönüşümün dinamik dengesi, bir yandan organizmaya yeni hücreler dahil edilmesi ve/veya hücresel ölümler ile sonuçlanan bir mekanizmayla sağlandığı bilinmektedir. Morfolojik ve

biyokimyasal kriterlere dayanarak hücrel ölüm: apoptotik, nekrotik ve otofajik hücre ölümü olmak üzere üç ana başlık altında tanımlanmaktadır (Kroemer ve ark. 2009).

1.2.1. Apoptotik, Nekrotik ve Otofajik Hücre Ölümü

1.2.1.1. Apoptoz

Apoptoz, hem fizyolojik hem de patolojik olarak meydana gelebilen hücrenin programlanmış bir intihar mekanizmasıdır. Organizmanın ve hücrelerin gelişiminde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Brill ve ark. 1999). Bununla birlikte bağışıklıkta (Cohen ve ark. 1992) ve çok hücreli organizmalarda hücrel homeostazın korunmasında etkin rol aldığı bildirilmiştir (Henson ve Hume 2006). Apoptotik ve nekrotik hücre ölümü arasındaki morfolojik fark ilk olarak Kerr ve arkadaşları (Kerr ve ark. 1972) tarafından bildirilmiş olup Şekil 8'deki şematik gösterimde demonstre edilmektedir. Apoptoz, hücrenin kompakt zarla kapalı yapılar parçalanmasıyla meydana gelir. Bu olay sonucunda oluşan "apoptotik cisimler" komşu veya özelleşmiş bazı hücreler tarafından hızlı bir şekilde fagosite edilir ve böylece enflamatuvar bir yanıtı yol açmadan dokudan uzaklaştırılır.



Şekil 8: Apoptoz ve Nekroz (Kerr ve ark. 1972)

Biyokimyasal olarak apoptoz, protein bölünmesi, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, DNA arızası ve fagositik tanıma sinyalleri olmak üzere farklı enerji bağımlı mekanizmalar ile karakterizedir (Elmore 2007). Mitokondriyal membran potansiyeli ve mitokondriyal bütünlük kaybolur ve bunun sonucunda ATP (adenosin trifosfat) üretiminin durmasına ve dış mitokondriyal membranın kopmasına neden olur. Bu da, mitokondriyal iç membran boşluğundan proapoptotik faktörler salgılar. Salgılanan faktörler bir indükleyici ve efektör proteaz zincirini aktive eder. Kaspaz aktive edildiğinde, çeşitli hücrel substratların proteolitik bölünmesinden sorumlu hale gelmektedir (Martin ve Green 1995).

Apoptotik hücrelerin diğer biyokimyasal özelliği hücre yüzey belirteçlerinin ifadesidir. Bu bağlamda en iyi çalışılan süreçlerden biri fosfatidilserin uzaklaştırılmasıdır. Böylece hücrenin lipid tabakasının içe bakan fosfatidilserinin

plazma zarının dış tabakasına aktarılır (Bratton ve ark. 1997). Fagositik yutulma için hücreyi öne çıkaran diğer apoptozis kaynaklı yüzey moleküllerinin Annexin I (Arur ve ark. 2003, Lim ve Pervaiz 2007) ve Kalretikülin (Gardai ve ark. 2005) içerdiği bilinmektedir. Apoptozisin biyokimyasal ve morfolojik özellikleri Tablo 4'de gösterilmektedir (Dalter 2013).

Tablo 4: Apoptosisin Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri (Dalter 2013).

Morfolojik Özellikler	Biyokimyasal Özellikler
Hücre büzülmesi	[Ca ⁺²] yükselişi
Kromatin yoğunlaşması	DNA yıkımı
Nükleer parçalanma	Kaspaz aktivasyonu
Membran kabarcıklanması	Mitokondriyal membran potansiyeli kaybı
Hücre ayrılması	Fosfatidilserin uzaklaştırılması
Apoptotik cisimlerin üretimi	
Ölü hücrelerin fagositozu	

Yukarıda da belirtildiği gibi, apoptoz çok hücreli organizmalarda hücrel homeostazın gelişimi, bağışıklığı ve korunması için oldukça önemli bir süreçtir. Gelişim sırasında, birçok hücrenin apoptoz yoluyla kontrollü olarak uzaklaştırılması organogenez ve doku düzenlenmesine katkıda bulunur (Meier ve ark. 2000). Apoptozis ayrıca gereksiz nöronları uzaklaştırması ile merkezi ve periferik sinir sisteminin nöronal ağlarının geliştirilmesinde önemli rol oynar (Malik 2012).

Erişkinlerde apoptozisin temel önemini gösteren bir başka örnek de bağışıklık sistemidir. İmmün hücreler, özellikle lenfositlerin sayısız yabancı antijen repertuarına cevap vermesi ve oto-antijenleri tolere etmesi gerekir. Apoptoz, bu senaryoda, iki ana fonksiyona hizmet eder; ilk olarak, tamamen reaktif olmayan lökosit öncüleri negatif seçimini sağlar. İkinci olarak ise, kendi vücudunun antijenlerine karşı reaktivite gösteren lenfositlerin negatif seçimi, yani timusta otomatik reaktivite gösteren lenfositler oto-bağışıklığı önlemek için apoptosise uğrarlar (Pinkoski ve ark. 2006). Apoptozun fizyolojik seviyeleri, aynı zamanda, hücre dokuları ve düzenlenmesindeki stabiliteyi dinamik dokularda muhafaza etmenin yanı sıra doku onarımında da önemli

bir rol üstlenmektedir. Doku iyileşmesi, yara onarımından, yeni matrislerin birikmesinden ve yaranın olgunlaşmasından sorumlu hücre popülasyonlarında birçok değişiklikleri içerir. Bir sonraki iyileşme evresine ilerlemesi, spesifik hücre tiplerinin ortadan kaldırılmasına bağlı olduğundan, apoptoz bu dokuları daha fazla doku hasarı veya enflamatuar bir yanıtı neden olmadan ortadan kaldırır (Greenhalgh 1998). Ayrıca apoptotik hücre ölümü, organizmaya potansiyel bir tehdit oluşturan hücreleri de ortadan kaldırır. Viral olarak enfekte olmuş hücreler, süpernümeryal, yanlış yerleştirilmiş hücreler veya hasarlı hücreler (örneğin DNA hasarı) apoptoza uğrayabilir. Ayrıca normal hücrelerin hayatta kalmasını ve işleyişini sağlamak için defektli hücreler elimine edilir (Norbury ve Hickson 2001).

Yukarıda verilen örnekler, canlı organizma için kesin olarak ayarlanmış bir apoptoz regülasyonunun ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Apoptoz disregülasyonunun ise geniş bir hastalık dizisinin patogenezi ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Hetts 1998). Merkezi sinir sisteminden nöronal alt tiplerin kademeli kaybı, çeşitli nörodejeneratif özelliklerin ayırt edici özelliği olduğu için ileri derecede apoptozun nörodejenerasyonla nedensel olarak bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Bu nörodejeneratif hasarlara örnek olarak Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, spinal müsküler atrofi ve amiyotrofik lateral skleroz gibi hastalıklar verilebilir (Thompson 1995). Belirli hücre tiplerinin aşırı apoptozisi, aynı zamanda, enfeksiyöz hastalıkların örneğin İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) ile enfekte CD4T hücrelerinin kaçınılmaz apoptozisi yoluyla edinilmiş immün yetmezlik sendromunun (AIDS) ilerlemesine de yol açabilir. Aşırı apoptozisin aksine, apoptozisin eksik olması otoimmüniteye, greft reddine veya kansere sebep olabilir. Otoimmünitenin, timustaki immün hücrelerin negatif seçiminden, yani oto-antijenlere karşı reaktif olan apoptoz indüksiyon hücrelerinin eksikliğinden kaynaklandığı bilinmektedir (Cummins ve Badley 2010).

1.2.1.2. Nekroz

Apoptotik hücre ölümünün tersine, nekroz genellikle akut, fizyolojik olmayan yaralanmaların bir sonucu olarak ortaya çıkan pasif bir süreç olarak tanımlanmaktadır. Morfolojik olarak nekroz, hücre hacminde (onkoz) artış, organellerin şişmesi, plazma

membranı rüptürü ve hücre içi içeriğin hücre dışına salınması ile karakterizedir. Bu, çevredeki hücrelerin zarar görmesi ve ilgili dokuda güçlü bir enflamatuvar yanıt ile sonuçlanmaktadır (Leist ve Jaattela 2001a).

Yukarıda tarif edildiği gibi nekrotik hücre ölümü termal, toksik veya mekanik yaralanma gibi dış faktörlerle tetiklenmektedir. Etkilenen hücreler, enerjiden bağımsız ve kontrolsüz bir ölüm şeklini izleyen pasif kurbanlar olarak tanımlanabilir. Fonksiyonel olarak nekroz genellikle patolojik ve kontrolsüz hücre ölüm tipi olarak kabul edilir. Ayrıca yapılan çalışmalar nekrotik hücre ölümünün hücre sel sinyal transdüksiyon yolları ile düzenlenebileceğini belirtmektedirler (Festjens ve ark. 2006, Golstein ve Kroemer 2007).

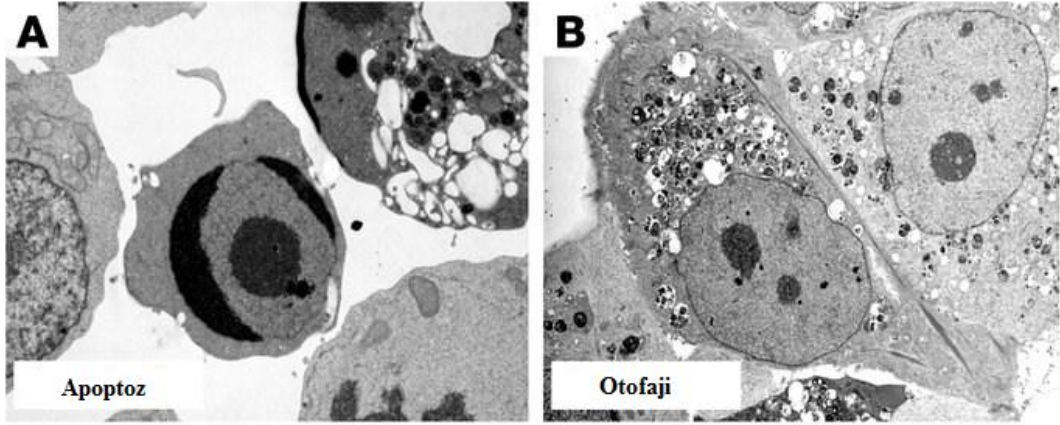
Apoptoz ve nekrozun hücre ölüm modalitelerinin tamamen farklı görünmesine rağmen, bu ayrım “apoptoz-nekrozis devamlılığı” terimini kullanarak sorgulanmaya başlanmıştır (Zeiss 2003). Buna göre nekroz ve apoptoz, biyokimyasal ağların farklı morfolojik modaliteleridir ve apoptotik uyaranlar fizyolojik ortamı değiştirerek nekrotik süreçlere dönüştürülebilir. Örneğin, kaspazların veya hücre içi ATP'nin mevcudiyetinin azaltılması apoptotik bir süreci nekroza dönüştürebilir (Denecker ve ark. 2001).

1.2.1.3. Otofaji

Otofaji olarak adlandırılan üçüncü tip hücre ölümü, otofajomların içindeki sitoplazmik materyalin tutulması ve ardından lizozomlar tarafından bozulması ile karakterize edilir. Bu olaya, kendi kendini yok etme eylemi olarak tanımlanmaktadır (Levine ve Klionsky 2004, Baehrecke 2005, Levine ve Kroemer 2008). Otofajik vakuolizasyon, hücre içi organellerin ve proteinlerin bozulmasının amino asitlerin, nükleotidlerin ve yağ asitlerinin sağladığı açlık ve stres koşullarına yanıt olarak ortaya çıktığı bilinmektedir (Levine ve Yuan 2005).

Tüm hücreler, homeostatik fonksiyonları gerçekleştirmek için gerekli olan düşük bir bazal düzeydeki otofajiyi göstermektedir. Bununla birlikte, bu otofaji, açlık veya trofik faktör geri çekilmesi, yapısal değişiklikler (örneğin gelişimsel süreçler) veya hasarlı sitoplazmik organellerin (örneğin oksidatif stres veya enfeksiyonlar sırasında)

sonuçları sırasında büyük ölçüde artış gösterdiği bildirilmiştir. Nekrozun aksine ve apoptosise ise benzer şekilde, otofajik ölüm, enflamatuar bir yanıtın indüksiyonuna yol açmaz. Otofaji veya apoptoz geçiren hücrelerin ultrastrüktürel örnekleri Şekil 9'da tasvir edilmiştir. Apoptozun aksine, DNA fragmantasyonu ve kaspaz aktivasyonu, ancak otofajinin çok geç aşamalarında tespit edilir (Dalter 2013).



Şekil 9: Apoptotik (A) ve Otofajik (B) Hücre Ölümü (Levine ve Yuan 2005).

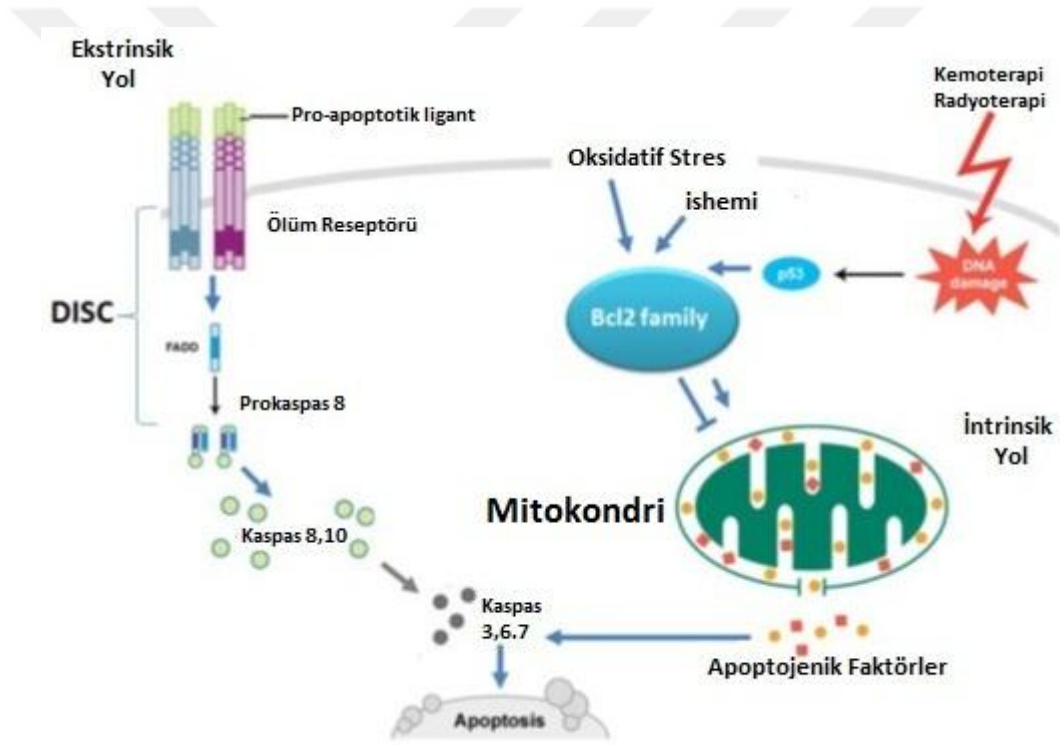
1.2.2. Apoptotik Yollar

Apoptoz, hücre yüzeyindeki ölüm reseptörlerinin aktivasyonunu (ekstrinsik yol) (Ashkenazi ve Dixit 1998) veya mitokondriyi (intrinsik yol) (Green ve Reed 1998) içeren iki ana yolla indüklenebilir. Apoptoz indüksiyonunun bu iki ana yolu, Şekil 10'da gösterilmekte ve aşağıdaki bölümlerde ayrı ayrı açıklanmaktadır (Dalter 2013).

Her iki yol da bir başlatma evresi, bir entegrasyon fazı ve bir hücre ölümü yürütme fazına bölünebilen bir sinyal dizini içerir. Bu iki yol karşılaştırıldığında, başlangıç aşaması ve entegrasyon fazı oldukça değişken olsa da, yürütme yolu ise neredeyse aynıdır. Ekstrinsik apoptotik yol, hücrenin yüzeyi üzerindeki aynı kökenli ölüm reseptörüne bağlanan bir harici ligand ve daha sonra bir hücre içi sinyalleme kompleksinin oluşumu ile tetiklenir. Bir dış sinyalin tersine, bir hücre içi organel (örneğin nükleus, endoplazmik retikulum, lizozom, golgi cihazı veya mitokondri) hasarı, mitokondriye bağımlı bir şekilde aracılık edilen intrinsik apoptoz yolunu başlatır. Entegrasyon aşaması, uyarının işlenmesini içerir ve hücre ölümü için geri

dönüşü olmayan noktaya ulaşıp ulaşılmadığına karar vermekten sorumludur (Dalter 2013).

Nihayetinde, her iki yol da ‘kaspazlar’ adı verilen proteazları aktive ederek ölüm aşamasındadır. Bu proteazlar, nükleer lamineler, PARP (poli-ADP-riboz-polimeraz) ve sitoskeletal proteinler gibi DNA onarım enzimleri dâhil olmak üzere çeşitli hayati hücrel substratların proteolitik bölünmesiyle hücre ölümünün son uygulayıcılarıdır (Leist ve Jaattela 2001b, Lazebnik ve ark. 1995, Lazebnik ve ark. 1994, Mashima ve ark. 1995). Bununla birlikte, kaspazdan bağımsız apoptoz formlarının da mevcut olduğu bildirilmektedir (Leist ve Jaattela 2001b).



Şekil 10: Apoptoziste Ekstrinsik ve İntrinsik yol (Dalter 2013)

1.2.2.1. Ekstrinsik yol

Bir pro-apoptotik ligand bir "ölüm reseptörüne" bağlandığında ekstrinsik yol aktive edilir. Ölüm reseptörleri, ligand bağlanması üzerine apoptosisi tetikleyen TNF (tümör nekroz faktörü) reseptör süperfamilyasına ait plazma membran proteinleridir. Ölüm reseptör gen ailesi 20'den fazla proteinden oluşur. Hücre ölümü ve hayatta kalma, farklılaşma veya bağışıklık düzenlemesi de dâhil olmak üzere geniş bir

yelpazede biyolojik fonksiyonları düzenler (Walczak ve Krammer 2000, Ashkenazi 2002).

En iyi karakterize edilen ölüm reseptörleri arasında Fas (Dhein ve ark. 1995), TNF reseptörü 1 (Tartaglia ve ark. 1993), TRAMP (Kitson ve ark. 1996, Bodmer ve ark. 1997), TRAIL reseptörü 1 ve 2 yer almaktadır (MacFarlane ve ark. 1997, Pan ve ark. 1997). Bunların ortak kökenli ölüm reseptörü ligandları, hücre yüzeyi üzerinde gösterilen transmembran proteinleri olarak ifade edilir. Ancak metaloproteazlar tarafından bölünme üzerine çözünebilir sitokinler olarak işlev görmek üzere hücre dışı çevreye salınabilir. İlgili reseptör ile ligand (Fas, TNFa, lenfotoksin, Tweak ve Trail) birleşimi reseptör-ligand komplekslerinin trimerizasyonunu başlatır. Hücre içi alanın ortaya çıkan konformasyonel değişikliği hücre içi “ölüm alanını” ortaya çıkararak, adaptör proteinlerin (örneğin FADD-Fas ilişkili ölüm alanı) bağlanmasına ve pro-kaspaz 8'in toplanmasına izin verir. Ölüm reseptörü ile uyarılan sinyalleşme kompleksi” (DISC), kaspaz 8'i otoproteolitik işleme aktive ederek apoptozisi başlatır. Kaspaz 8 sırasıyla Kaspaz 3, 6 ve 7'yi içeren efektör kaspazları proteolitik olarak aktifleştirir (Smith ve ark. 1994, Boldin ve ark. 1995, Chinnaiyan ve ark. 1995, Ashkenazi ve Dixit 1998, Thorburn 2004).

1.2.2.2. İntrinsik Yol

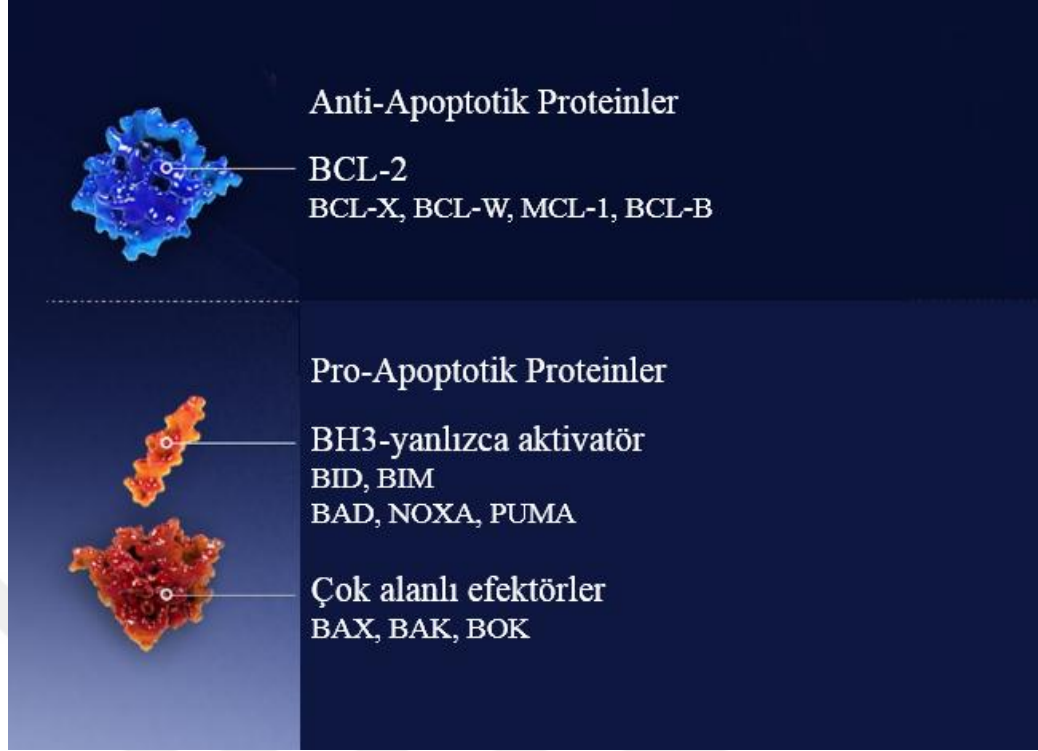
Ekstrinsik apoptoz yolunun aksine, intrinsik apoptoz yolu doğrudan hücre içinde hareket eden, hücre içi sinyalleri üreten ve reseptör olmayan aracılık uyaranları dizisi tarafından başlatılır. İntrinsik yol, DNA hasarı, iskemi, oksidatif stres ve artmış hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonları gibi çeşitli hücrel stres sinyalleri tarafından tetiklenir. Bütün bu sinyaller mitokondriyal fonksiyona ve bütünlüğüne etki eder. Hücrel stres üzerine, proapoptotik Bcl-2 (B-hücreli lenfoma 2) aile üyelerinin [Bax (Bcl-2 ile ilişkili X protein), Bad (Bcl-2 ilişkili ölüm promoteri) veya Bak (Bcl-2 homolog antagonist / katil)] ve anti-apoptotik Bcl-2 aile üyelerinin [Bcl-2 veya Bcl-xL (B-hücreli lenfoma-ekstra büyük)] fonksiyonel dengesi pro-apoptotik proteinlerin lehine yönelik olduğu bilinmektedir. Ortaya çıkan mitokondri pertürbasyon, iç mitokondriyal membran geçirgenliğinde ani bir değişiklik olan ‘mitokondriyal geçirgenlik geçişi (MPT) yoluyla mitokondriyal membran permeabilizasyonunu indükleyebilir (Kim ve

ark. 2003). Bununla birlikte mitokondri aracılı apoptoz yolunda “geri dönüşü olmayan nokta” olarak tanımlanan mitokondriyal dış zar permeabilizasyonunun mekanizması meydana gelmektedir (Vieira ve Kroemer 1999, Green ve Kroemer 2004). MPT ve iç mitokondriyal membran permeabilitesindeki artış, sonuçta apoptojenik faktörlerin salınmasına neden olan dış mitokondriyal membranın kopmasıyla sonuçlanır (Mayer ve Oberbauer 2003). Bu pro-apoptotik proteinler arasında sitokrom C (Yang ve Cortopassi 1998), Apoptoz indükleyici faktör (AIF) (Lorenzo ve ark. 1999, Susin ve ark. 1999), Endonuclease G (Li ve ark. 2001), Smac / Diablo (Adrain ve ark. 2001) ve Omi / HtrA2 (yüksek sıcaklık gereksinimi A2) (Suzuki ve ark. 2001) bulunmaktadır. Pro-Kaspaz 9 ile birlikte sitokrom C ve Apoptoz proteaz aktive edici faktör 1 (APAF1), "apoptozom" 'u oluşturur (Zou ve ark. 1999). Apoptozom, başlatıcı kaspaz 9'un akabinde, apoptozun uygulanmasını kolektif olarak düzenleyen aşağı akış efektör kaspazlarının proteolitik aktivasyonunu tetikleyen bir sonraki aktivasyon platformunu sağlar. Smac / Diablo ve Omi / HtrA2, apoptozun sitozolik inhibitörlerini (IAP ailesi, örn., C-IAP1, c-IAP2, Survivin, X-bağlantılı IAP) antagonize eder ve böylece apoptozu teşvik eder. AIF ve Endonuclease G nükleusa doğru yer değiştirir, nükleer yoğunlaşma ve kromatin parçalanmasını tetikler (Dalter 2013).

1.2.3. Bcl-2

Bcl-2 protein ailesi, apoptozis düzenlenmesinde özellikle geri dönüşümsüz hücrel hasarın üst kısmında yer alan ve esas olarak mitokondri seviyesinde hareket eden intrinsik yolda önemli bir rol oynayan pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerden oluşur (Gross ve ark. 1999). Bcl2 geni tarafından kodlanan Bcl-2, 20 yıldan daha uzun süredir tanımlanmış olan bu ailenin ilk proteindir. Tüm Bcl-2 üyelerinin yeri dış mitokondriyal membran üzerindedir. Bunlar ya bir iyon kanalı biçiminde ya da gözeneklerin oluşturulması yoluyla zar geçirgenliğinde oluşumlardır (Minn ve ark. 1997).

Bcl-2 aile üyeleri 3 fonksiyonel gruba ayrılabilir: Bcl-2 gibi anti-apoptotik proteinler, pro-apoptotik efektörler ve pro-apoptotik aktivatörler (Şekil 11, Anonim 3).



Şekil 11: Bcl-2 Sınıflandırılması (Anonim 3).

Bcl-2 familyasının anti-apoptotik ve pro-apoptotik üyelerinin dengesi bozulduğunda, etkilenen hücrelerde bozulmuş apoptoz ile sonuçlanır. Bu, bir veya daha fazla anti-apoptotik proteinin aşırı ekspresyonuna veya daha fazla pro-apoptotik proteinin bir ekspresyonuna ya da her ikisinin bir kombinasyonuna bağlı olabilmektedir. Örneğin, Raff (1992) Bcl-2'nin aşırı ekspresyonunun prostat kanseri hücrelerini apoptozdan koruduğunu gösterirken, Fulda ve ark. (2000) Bcl-2 aşırı ekspresyonunun; nöroblastom, glioblastom ve meme kanseri hücrelerinde TRAIL ile indüklenen apoptozun inhibisyonuna yol açtığını bildirmişlerdir. Bax (G) 8 çerçevelenme mutasyonlarından kaynaklanan bozulmuş apoptozun, kolorektal kanser hücrelerinin antikanser tedavisi direncine katkıda bulunabildiği bildirilmiştir (Miquel ve ark. 2005).

1.2.4. Kaspazlar

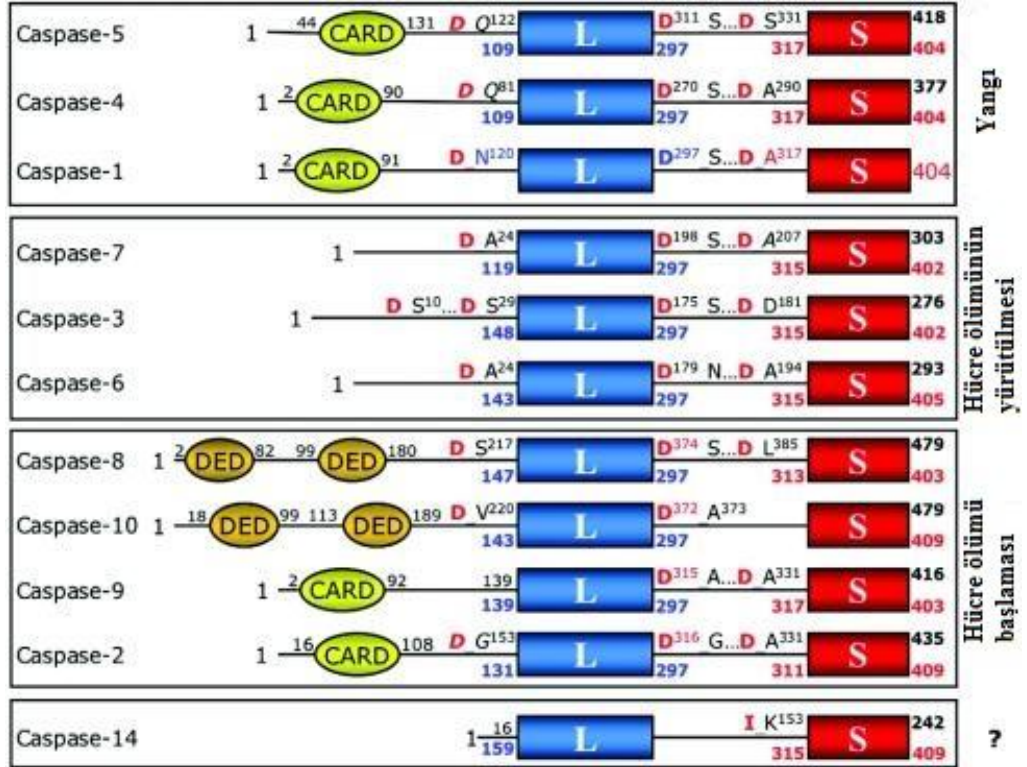
Bugüne kadar, fonksiyonlarına, yapısına, substrat tercihine ve sekans homolojisine bağlı olarak geniş çapta sınıflandırılabilen yaklaşık 10 ana kaspaz tanımlanmıştır. Memeli sistemde, kaspazlar başlatıcı kaspazlar (kaspaz 2, 8, 9, 10),

efektör veya yürütücü kaspazlar (kaspaz 3, 6, 7) ve enflamatuar kaspazlar (kaspaz 1, 4, 5) olarak gruplandırılabilir (Cohen 1997). Başlatıcı kaspazların ve efektör kaspazların rolü, hem intrinsik hem de ekstrinsik apoptoz yolu ile hücre ölümünün gerçekleşmesi için oldukça önem arz etmektedir. Enflamatuar kaspazların, enflamatuar sitokinlerin ilerlemesine dâhil olduğu ve enflamasyon yanıtını ortaya çıkardığı gösterilmiştir. Keşfedilen diğer kaspazlar: kaspaz 12, 11, 14' dür. Kaspaz 12' nin farelerde endoplazmik retikulum stresiyle tetiklenen apoptozun düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (Nakagawa ve ark. 2000). Kaspaz 11 ise septik şokta apoptoz ve sitokin olgunlaşmasının düzenlenmesinde rol alır (Kang ve ark. 2002). Bununla birlikte kaspaz 14, embriyonik dokuda yüksek oranda eksprese edildiği halde erişkin dokuda bulunmayan gelişimsel süreçlerde yer alır (Hu ve ark. 1998).

Klasik apoptotik kaspazların, belirli koşullar altında, örneğin apoptotik olmayan rollere sahip olabileceği de belirtilmektedir. Kaspaz 3'ün aktivasyonu, nöronlarda reseptör içselleştirmesinde yer alır ya da iskelet myoblastlarının myotüplere farklılaşması için kaspaz 9 aktivitesi gereklidir. Bu olayda kaspaz aktivitesi apoptoz indüksiyonu ile ilişkili değildir (Li ve ark. 2010, Murray ve ark. 2008).

Başlatıcı kaspazlar grubu, apoptotik bir uyarana tepki vermek ve apoptotik cevabı tetikleyen ilk kaspazlar olan kaspaz 2, 8, 9 ve 10'u içerir. Prokaspaz moleküllerinin spesifik ölüm sinyalizasyon komplekslerine alınmasına aracılık eden uzun pro-alanlar içerirler ve otokatalitik aktivasyonlarına yol açarlar (Şekil 12) (Fuentes-Prior ve Salvesen 2004). Pro-alan karakteristik olarak ya N-terminalinde iki "ölüm efektör alanı" (DED; kaspaz 8 ve 10'da) veya bir "kaspaz işe alım bölgesi" (CARD; kaspaz 2 ve 9'da mevcut) içerir. Bu alanlar, DED alanı (örn. DED alanı kaspaz 8 ve ekstrinsik apoptoz yolunda FADD'nin DED alanı) veya CARD alanı (örn. ekstrinsik apoptoz yolunda DED domaini kaspaz 8 ve FADD'nin DED alanı) yukardaki bağdaştırıcı moleküllerle procaspazların homofilik etkileşimlerine aracılık eder (Fuentes-Prior ve Salvesen 2004). Kendiliğinden aktive edildikten sonra, başlatıcı kaspazları, kendilerine özgü substrat özelliklerine bağlı olarak efektör kaspazlarını spesifik olarak ayırırlar (Thornberry ve ark. 1997).

Kaspaz 3, 6 ve 7 de dahil olmak üzere efektör kaspazlar başlatıcı kaspazlarının ileri safhasıdır ve bunların aktivasyonu, hücre ölümünün gerçekleşmesiyle sonuçlanır. Uzun pro-alandan ve kendiliğinden aktive olma yeteneklerinden yoksundurlar ve bu nedenle aktifleştirici kaspazlarla proteolitik işleme gereksinim duyarlar (Şekil 12) (Thornberry 1999, Degterev ve ark. 2003). Kaspazların aktivasyonu, birinci aşamada küçük alt üniteyi parçalamayı, ardından kalan pro-alanı ve büyük alt birimini ayıran ikinci bir proteolitik bölünmeyi gerektirir (Thornberry ve Lazebnik 1998). Hücre ölümünün hem intrinsik hem de ekstrinsik apoptoz yolağı tarafından nihai olarak uygulanması, efektör kaspazlarının proteolitik aktivasyonuna dayanır. Bu proteolitik aktivite, apoptosisin morfolojik özelliklerini oluşturan proteolitik olayların çoğundan sorumludur.



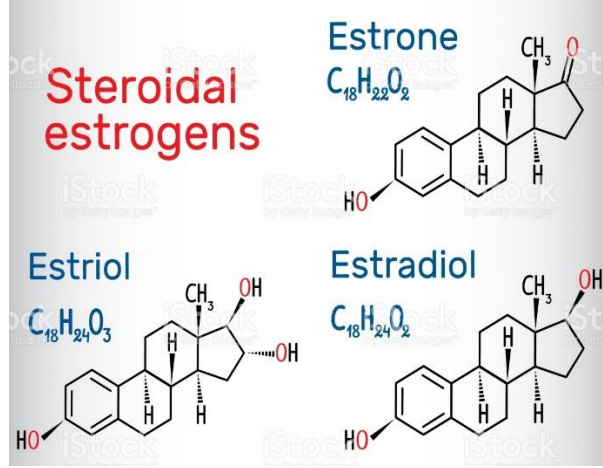
Şekil 12: Kaspaz Çeşitleri ve Etkin Alanları (Fuentes-Prior and Salvesen 2004).

1.3. Östrojen

Epidemiyolojik ve klinik bulgular, kadın seks hormonlarının Parkinson hastalığı semptomlarının başlangıcını ve şiddetini etkileyebileceğini göstermektedir. Örneğin, Parkinson hastalığı erkeklerde kadınlardakinden yaklaşık 3/2 oranında (Mayeux ve ark. 1992) daha fazla görüldüğü ve bu da hastalığa yatkınlıkta östrojenlerin muhtemel koruyucu etkisine işaret eder (Dluzen ve McDermott 2000). Östrojen düzeyinden dolayı cinsiyet farklılıkları, erkek ve kadınlarda Parkinson hastalığını tedavi etmek için kullanılan dopaminerjik ilaçların göstermiş olduğu tedaviye yanıt, ilaç klirensi ve kan basıncında farklı şekilde etkilediği bildirilmektedir (Wright ve ark. 1997, Kraus ve ark. 1999). Bu da substansia nigra ve striatum içindeki dopaminerjik fonksiyonun pre ve postsinaptik indekslerinin östrojenik modülasyonunu ve östrojenin dopaminerjik nöronları 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinden (MPTP) ve diğer toksinlerden koruma becerisini desteklemektedir (Dluzen ve Ramirez 1983, Di Paolo ve ark. 1988, Becker 1990, Morissette ve Di Paolo 1993, Disshon ve Dluzen 1997). Klinik raporlar hem Parkinson hastalığı hem de Parkinson hastalığı ile ilişkili demansın başlamasında ve ilerlemesinde östrojen ikame tedavisinin koruyucu etkisini göstermektedir (Marder ve ark. 1998, Blanchet ve ark. 1999).

1.3.1. Östrojen hormonunun temel etki mekanizması

Östrojen, gebe olmayan kadınlarda çoğu ovaryumdan olmak üzere bir miktarda adrenal bezden salgılanır. Gebe olanlarda ise plasentadan salgılanmakta, β -östradiol, östron ve östriol (Şekil 13) olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Bunların içinde en fazla salgılananı β -östradiol, en az salgılananı ise östron'dur. Bu östron periferik dokularda adrenal androjenlerden ve granüloza hücrelerinde tekal androjenlerden üretilir ve etkisi oldukça zayıftır. Östriol, diğerlerinin oksidasyon ürünü olarak meydana geldiği bilinmektedir. β -östradiol; östronun 12, östriolün ise 80 katı östrojenik etki gösterebildiği bildirilmiştir (Altunkaynak ve ark. 2012).



Şekil 13: Steroid östrojenler ve yapısı (Anonim 4)

Steroid yapıda olan östrojen hormonunun büyük bir kısmı kolesterolden olmak üzere, asetil CoA'dan da sentezlenir. Teka hücrelerinden sentezlenen testosteron granüloza hücrelerinde östrojene dönüştürülür (Altunkaynak ve ark. 2012).

Östrojenler, albümin, özgül östrojen ve progesteron bağlayıcı globülinlere zayıf şekilde bağlanarak kanda taşınırlar ve çok hızlı bir şekilde (30 dakika) dokulara geçerler. Karaciğer, östrojenlerin bir kısmını glukoronidler ve sülfatlara bağlayarak safraya bırakır. Geri kalanı ise idrarla dışarı atılır. Etkili östrojenler olan östradiol ve östron karaciğer tarafından etkisi daha az olan östriole çevrilir. Östrojen memelilerde hücrelerin büyümesi, embriyolojik gelişim ve yaşamın devamlılığı açısından oldukça büyük öneme sahiptir (Parborell ve ark. 2005, Kumar ve ark. 2008, Fadini ve ark. 2009, Tomikawa ve ark. 2009).

Yapılan çalışmalarda, östrojenin hücreler olarak fizyolojik etkileri üç mekanizma ile açıklanmaktadır (Isgor ve Watson 2005, Galea ve ark. 2006, Prange-Kiel ve Rune 2006, Galea 2008, Kelly ve Ronnekle 2009). İlki direkt olarak genomik mekanizmalar yoluyla etki göstermesi, ikincisi indirekt olarak nongenomik etki ve üçüncüsü ise nongenomik etki olarak ifade edilmektedir (Kuiper ve ark. 1998, Katzenellenbogen ve ark. 2000, Matthews ve Gustafsson 2003, Zhao ve ark. 2008). Yani östrojen reseptörleri (ERs) aracılığıyla östrojen moleküllerinin genomik etkilerini gerçekleştirdiği görülmektedir (Kuiper ve ark. 1998, Katzenellenbogen ve ark. 2000, Matthews ve Gustafsson 2003, Zhao ve ark. 2008).

Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında ERs'nin ER α ve ER β olmak üzere iki alt gruba sahip olduğu bildirilmektedir (Kuiper ve ark. 1998, Katzenellenbogen ve ark. 2000, Cheung ve ark. 2003, Lindberg ve ark. 2003, Matthews ve Gustafsson 2003, Monreo ve ark. 2003, Chang ve ark. 2008, Zhao ve ark. 2008). Bu iki reseptör alt tipi doku ve organlarda değişik dağılım gösterdiği bilinmektedir (Knapczyk-Stwora ve ark. 2011, Meyer ve ark. 2009, Sica ve ark. 2009). Bulunduğu dokular uterus ve meme bezlerinde ER α yoğunluğunun, merkezi sinir sistemi, immün sistem, kardiyovasküler sistem, kemik, ürogenital yollar, akciğerler ve böbreklerde ise ER β 'nin yoğunluğunun olduğu bildirilmiştir (He ve ark. 2002, Vasudevan ve Ptaff 2008).

Yapılan araştırmalarda hem sitoplazmik hem de nükleer formlarının bulunduğu ER α ve ER β 'nin ve bu formların reseptörlerin yaklaşık %98'ini oluşturduğu bildirilmiştir. Yani reseptörlerin yaklaşık %2'sinin hücre membranında bulunduğu bildirilmektedir (Boulware ve Mermelstein 2009, Hirahara ve ark. 2009, Mermelstein 2009). Sonuç olarak östrojen reseptörleri nerede bulunursa bulunsun, büyük kısmı steroid reseptörü üst ailesinin üyeleri olup esas olarak hormonal uyarı ile kendilerine ait olan DNA bağlanma bölgeleri boyunca, bir transkripsiyon faktörü olarak görev yaptıkları bilinmektedir (Favaro ve Cagnon 2008, Lizotte ve ark. 2009).

İndirekt genomik mekanizmada; 17 α -östradiol hücre içi ikincil yollar vasıtasıyla direkt genomik mekanizma yolağıyla birleşerek hücrenin transkripsiyon etkisini ortaya çıkarır (Teng ve ark. 2008).

Bu yollar kısaca açıklanacak olursa;

- Protein kinaz C (PKC),
- cAMP,
- Protein kinaz A (PKA),
- Mitojenin aktifleştirdiği protein kinaz (MAPK) ve
- Hücre dışı sinyalin düzenlediği kinaz yolağı (ERK) olarak bildirilmiştir (Toran-Allerand 2004, Toran-Allerand 2005, Toran-Allerand ve ark. 2005, McMillan ve ark. 2006).

1.3.2. Östrojen ve Parkinson Hastalığı

Parkinson hastalığındaki cinsiyet farklılıklarında östrojenlerin muhtemel bir katkıda bulunduğu ifade edilmektedir (Smith ve Dahodwala 2014, Gillies ve ark. 2014, Litim ve ark. 2016). Her ne kadar çelişkili veriler olsa da yapılan çalışmalar yaşam boyu daha uzun östrojen maruziyeti bulunan kadınlarda hem Parkinson hastalığına yakalanma riskinin azalması hem de Parkinson hastalığında daha hafif klinik belirtiler göstermesi bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir (Benedetti ve ark. 2001, Gatto ve ark. 2014). Çoğu kadında menopozdan sonra Parkinson hastalığı gelişir bu yüzden östrojenin vücutta olmaması hastalığın patogeneğinde rol oynadığını akla getirmektedir (Moisan ve ark. 2015, Haaxma ve ark. 2007, Cereda ve ark. 2013). Buna göre, prelinik veriler östrojenlerin dopaminerjik hasara karşı koruyucu olduklarını göstermektedir. Östrojen yoksunluğuna sahip hayvan modelleri, dopaminerjik nöron kaybı, dopaminerjik metabolizma ve transporter alımını göstermektedir, bu da eksojen östrojenlerin uygulanması ile kısmen tersine çevrilebilmektedir. Birçok çalışmada, estradiyol ve ilgili bileşiklerin, nöronların apoptozunu azaltan birkaç hücre içi mekanizma yoluyla striatum ve substantia nigra'da nöromodülatör ve nöro-koruyucu faaliyetler gösterdiklerini bildirmektedir. Ayrıca östrojenlerin Lewy body birikimini de spesifik alfa-sinüklein anti-agregasyon ve fibril destabilizasyon özellikleri ile önleyebildiğini bildirmişlerdir (Smith ve Dahodwala 2014, Gillies ve ark. 2014, Litim ve ark. 2016).

Bununla birlikte, insanlarda Parkinson hastalığı üzerinde östrojenlerin klinik etkileri üzerinde çok az çalışma bulunmaktadır (Litim ve ark. 2016). Bir çalışmada, Parkinson hastalığı 13 menopozlu kadında östrojen replasman tedavisinin ardından TRODAT SPECT taraması ile ölçülen putaminal dopamin aktif taşıyıcısını arttırdığını ifade etmiştir (Gardiner ve ark. 2004). Düşük doz östrojenlerin menopoz sonrası kadınlarda motor sakatlık ve motor dalgalanmalarında hafif de olsa iyileşme gösterdiği bilinmektedir (Blanchet ve ark. 1999, Strijks ve ark. 1999, Tsang ve ark. 2000, Nicoletti ve ark. 2007).

Östrojen, yaşam döngüsü boyunca doğal olarak dalgalanan seviyelere sahip endojen bir bileşiktir. Östrojenin etkileri beyin içinde ve dışında yaygındır ve

konvansiyonel çalışma tasarımları, endojen / eksojen östrojen maruziyetindeki değişkenlik ve hormonal değişiklikler ile kronik bir hastalığın başlangıcı / ilerleyişi arasındaki ara yüz dahil olmak üzere karmaşık değişkenleri değerlendirmede güçlük çektiği bildirilmektedir. Böylece kronik östrojen maruziyeti meme kanseri ve koroner kalp hastalığı riskinin artmasıyla ilişkili olduğundan, getirmiş olduğu fayda riskten fazla olması olumlu yönde bakılmasını sağlamaktadır (Rossouw ve ark. 2002).

Östrojenin hem presinaptik SN nöronlarının işlevlerini hem de striatumdaki postsinaptik hedeflerini değiştirdiğini ve böylece bazal gangliyon içindeki dopaminerjik translüsyon üzerinde güçlü bir modülatör etki gösterdiğini bildirmektedir (Shulman 2002).

Hem overektomi yapılmamış hem de overektomi yapılmış hayvanlar kullanılarak yapılan çalışmalarda, östrojenin nigral dopamin sentezini ve striatum içindeki nigral akson terminallerinden dopaminin salınmasını arttırdığını göstermektedir. İntraperitoneal olarak uygulanan östrojen, overektomi yapılmış sıçanların striatumundaki dopamin (DA) sentezini kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hızla artış gösterdiği bilinmektedir. Ayrıca östradiolün striatuma doğrudan uygulanması, yeni sentezlenen DA veya dihidrofenilasetik asit (DOPAC) salınımı artırılmasını, östrodiol kaynaklı fosforilasyon ile önceden varolan tirozin hidroksilaz (TH) moleküllerinin aktivasyonu desteklemektedir (Pasqualini ve ark. 1996, Pasqualini ve ark. 1993). Östradiolün sıçanlarda DA içeriğinin tükenmesine yol açmadan hızlı bir şekilde arttıracaklarını göstermiştir (Becker ve Beer 1986, Becker 1990, McDermott ve ark. 1994). Bu durumu overektomi sonrası striatal DA salınımındaki azalma desteklemektedir (Becker 1990, Ohtani ve ark. 2001).

Parkinson hastalığının hayvan modelinde kullanılan nörotoksin MPTP'dir. Bu bileşik, hayvanlarda Parkinson hastalığı semptomları uyararak, nigrostriatal dopaminerjik sistemin dejenerasyonunu üretir. Östradiol ile tedavi edilen grup, kontrol fareleri ile karşılaştırıldığında yüksek konsantrasyonlarda DA ile belirlenen dopaminerjik nöronların kaybına karşı koruduğu görülmüştür (Dluzen ve ark. 1996). Benzer şekilde sıçanlarda, östradiol MPTP'nin aktif metaboliti olan MPP+'yı doğrudan nüfus ederek toksisiteye karşı nöro-koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir

(sıçanlar fareler gibi MPTP'yi metabolize edemediğinden, bu türlerde MPP+ kullanılmıştır). Yapılan bir başka çalışmada, 6-OHDA ile oluşturulan model kullanılmıştır ve 6-OHDA overektomi yapılmış sıçanların striatumuna doğrudan infüzyonu ile DA konsantrasyonları önemli ölçüde azaltmıştır. Bununla birlikte Parkinson hastalığı modeli oluşturulan gruba zaman salınımlı bir östrojen peleti implante etmişlerdir. Sonuç olarak östrojen implante edilen grupta 6-OHDA'nın enjekte edilmesinden sonra DA seviyesinde daha düşük bir azalma tespit etmişlerdir (Dluzen 1997).

Leranth ve arkadaşları (2000), maymunlarda overektomiden 30 gün sonra nigral dopaminerjik nöronların %30'undan fazlasının kaybedildiğini, östrojen uygulamasının ile bu durumun önlendiğini bulmuşlardır. Bu hayvanlara 30 gün sonra östrojen verilmesinin, normal seviyelerde hücre yoğunluğunun geri gelmesi gerçekleşmemiş fakat overektomi sonrası 10 gün içinde östrojen uygulandığında, nigral dopaminerjik nöronların kaybının düzeldiğini bildirilmiştir. Bu sonuçlar, östrojenin, nigral dopaminerjik nöronların korunması için gerekli olabileceğini ve nöronal kaybın önlenmesi için overektomiyi takiben östrojen verilmesi terapötik etkisi olabileceğini düşündürmektedir (Leranth ve ark. 2000).

Yapılan literatür taramalarında erkeklerin PH'sına daha yatkın olmaları ve kadınların menopozdan sonra hastalığa yakalanmaları akla östrojen eksikliğini getirmektedir. Bu bilgiler ışığında, overektomi yapılan ratlarda Rotenon ile deneysel olarak oluşturulan Parkinson modelinde östrojenin implant uygulamasının tedavi etkinliğine ve apoptozis üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlandı.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

Çalışmamız Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan onay (KAÜ-HADYEK 2017-029 kodlu) alındıktan sonra başlatılmıştır.

Bu çalışmada toplam 32 adet olmak üzere 4-6 aylık, ortalama 190-250 gr ağırlığında, dişi Wistar Albino Sıçan kullanılmıştır. Bu sıçanlar, resmi olarak deney hayvanları üretme ve satma yetkisi bulunun Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Barındırma Ünitesinden temin edildi. Çalışma Kafkas Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Barındırma Ünitesinde yapıldı. Hayvanlar, çalışma zamanına kadar yaklaşık olarak 25 °C'lik oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsü ayarlanabilen ve havalandırması mevcut bir ortamda muhafaza edilip ad-libitum olarak beslenerek ağırlıklarına göre her bir grupta 8 sıçan olmak üzere toplam 4 gruba ayrılmıştır.

Araştırmada kullanılan rasyon bileşimi;

İÇERİK	%
Kuru madde	88
Ham protein	23
Ham selüloz	5
Ham kül	8
HCl'de çözülmüş kül	1
NaCl	1
Kalsiyum	1-1,3
Sodyum	0,5-0,6
Fosfor	0,9
Lizin	1,35
Metiyonin	0,45
Sistin	0,35
Vitamin A	15000 IU/kg
Vitamin D3	3300 IU/kg
Vitamin E	40 mg/kg
Vitamin B2	5 mg/kg
Vitamin B12	20 mcg/kg
Vitamin K3	5 mg/kg
Metabolik enerji	3100 Kcal/kg

2.2. Metot

Çalışmada kullanılan hayvanlar ağırlıklarına göre her bir grupta 8 sıçan olmak üzere toplam 4 gruba ayrılarak ve tablo 5’de sunulmuştur.

Tablo 5: Deney Grupları ve Yapılan Uygulamalar

Gruplar	Yapılan uygulama
Grup 1: Kontrol Grubu	Herhangi bir uygulama yapılmadan sadece ad-libitum olarak beslendi.
Grup 2: Overektomi Grubu	Overektomi yapıldıktan herhangi bir uygulama yapılmadan sadece ad-libitum olarak beslendi
Grup 3: Parkinson Grubu	Overektomi yapıldıktan sonra 2,5 mg/kg dozda 10 gün (1, 2, 3, 4, 6, 9, 12, 15, 18, 21 gün) subkutan roteneon (Samantaray ve ark. 2007) uygulanarak Parkinson modeli oluşturuldu.
Grup 4: Parkinson + 17β-estradiol	Overektomi yapıldıktan sonra 2,5 mg/kg dozda 10 gün (1, 2, 3, 4, 6, 9, 12, 15, 18, 21 gün) subkutan roteneon (Samantaray ve ark. 2007) uygulanarak Parkinson modeli oluşturuldu ve daha sonra totalde 0,5 mg 17 β -estradiol içeren 21 gün etkili implant (Gillies ve ark. 2004) subkutan uygulandı.

2.2.1. Kullanılan Alet ve Malzemeler

- Spektrofotometre (Microplate Reader Epoch, Shimadzu UV-1201)
- Deiyonize su cihazı (Heidolpph, type-mono, Dest-3000)
- Ayarlanabilir otomatik pipetler (Axygen 5-1000 μ L)
- Soğutmalı santrifüj (Heraeus christ)
- Homojenizatör (Wıggen Hauser)
- Buzdolabı (Bosch)
- Hassas terazi (Scaltec)
- pH metre (inoLab)
- Vorteks (Labinco)

- Manyetik karıştırıcı (Labinco-532)
- Rotarod cihazı
- Havuz
- Pole çubuğu

2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Rotenon (Sigma)
- Dimetil sülfoksit (DMSO) (Sigma)
- Polietilen Glikol (PEG-300) (Sigma)
- 17 β -estradiol implant (Innovative Research of America)

2.2.3. Kullanılan Kitler

- Sıçan Kaspaz-3 (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)- Fine Test)
- Sıçan Bcl-2 (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)- Fine Test)
- TH Monoclonal Antibody, (F-11) sc-25269, Santa Cruz
- Caspase 3 Polyclonal Antibody, bs-0081R, Bioss Antibodies

2.2.4. Kullanılan Diğer Malzemeler

- Steril enjektör (5, 10 mL) (Hayat)
- Steril insülin enjektörü (1 mL) (Hayat)
- EDTA'lı kan tüpü (Venoject)
- Eppendorf tüp (1,5, 2 mL) (Eppendorf)
- Otomatik pipet uçları (10, 100 ve 1000 μ L) (Isolab)
- Dispender uçları (0,1, 0,5, 1 ve 5 mL) (Eppendorf)
- 96 kuyucuklu plate (Brand)

2.2.5. Rotenon'un Hazırlanışı

İstenilen miktar rotenon hassas terazide tartıldı. Tartılan kimyasal balon jöjeye konuldu. Daha sonra üzerine 1/1 oranında DMSO ve PEG-300 ilave edilerek çözdürüldü (Samantaray ve ark. 2007).

2.2.6. Doku Homojenizasyonu İçin Kullanılan Tampon Çözelti

0,1 M Fosfat tampon çözeltisi (PBS) (pH 7,4): 500 ml'lik balon jöjeye, bir miktar distile su ilave edildi. Üzerine 37,86 g NaCl + 6,150g Na₂HPO₄.2H₂O+ 4,150g NaH₂PO₄.2H₂O'dan hassas terazide tartılıp eklendi. Daha sonra manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözüldürüldü. Daha sonra üzerine distile su ilave edilerek hacmi 500 ml'ye tamamlandı ve solüsyonun pH'sı 7,4'e ayarlandı.

2.2.7. Overektomi Operasyonu

Çalışmadaki 3 gruba toplamda 24 hayvana overektomi operasyonu yapıldı. Yapılan operasyon basamakları (Resim 1a, 1b) aşağıda verilmiştir.

Ovariektomi operasyonu için sıçanlara ketamin/ksilazin (35-50/5-10mg/kg) (Ketalar-Pfizer/Alfazyne %2-Ege-Vet) kullanılarak anestezi uygulandı.

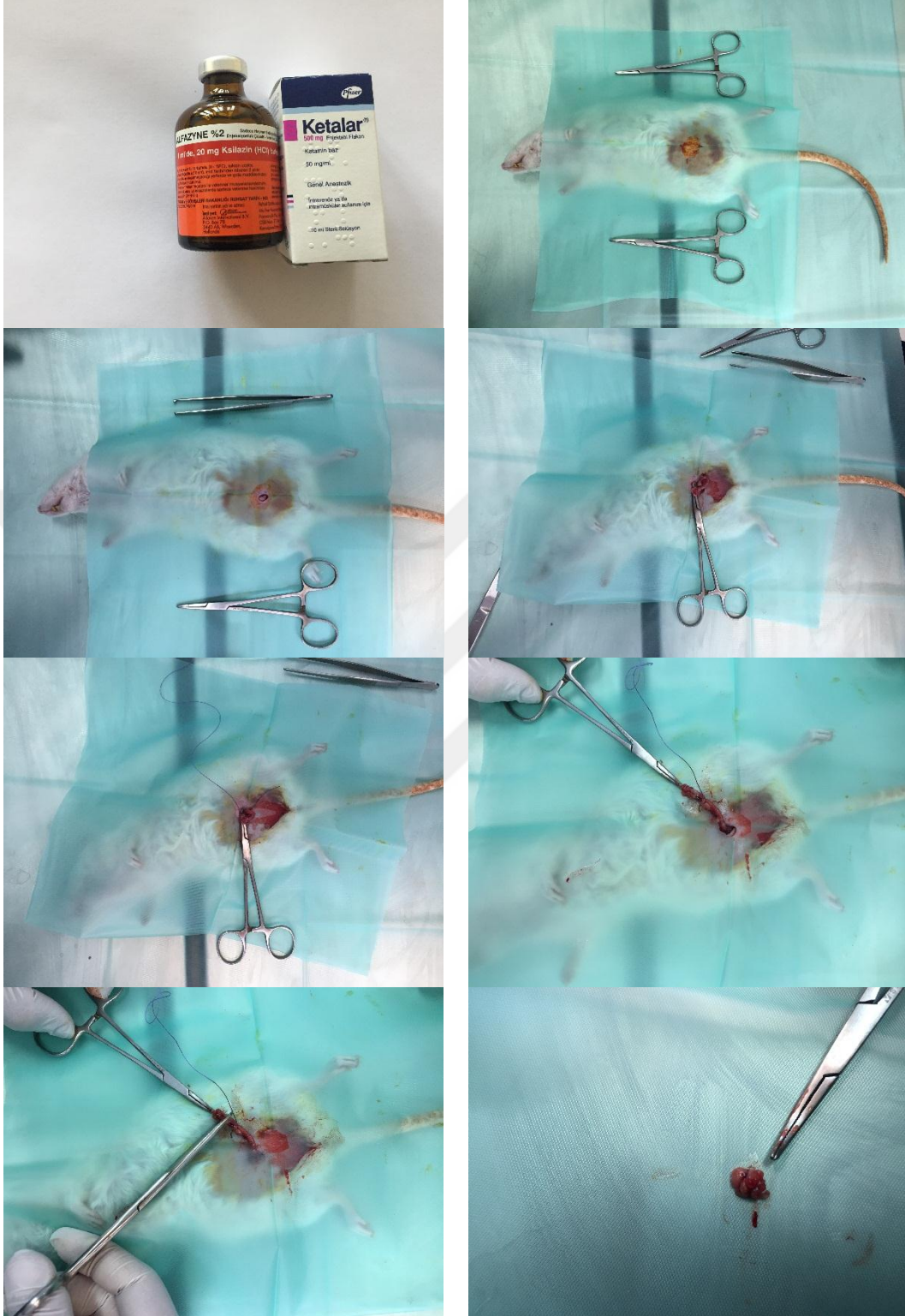
Anesteziden sonra sıçanlar sırt üstü yatırılarak operasyon bölgesi tıraş edildi ve asepsisi sağlandı.

Operasyon median ensizyon ile yapıldı. Deri, kas katmanları ve periton kesilerek karın boşluğuna ulaşıldı.

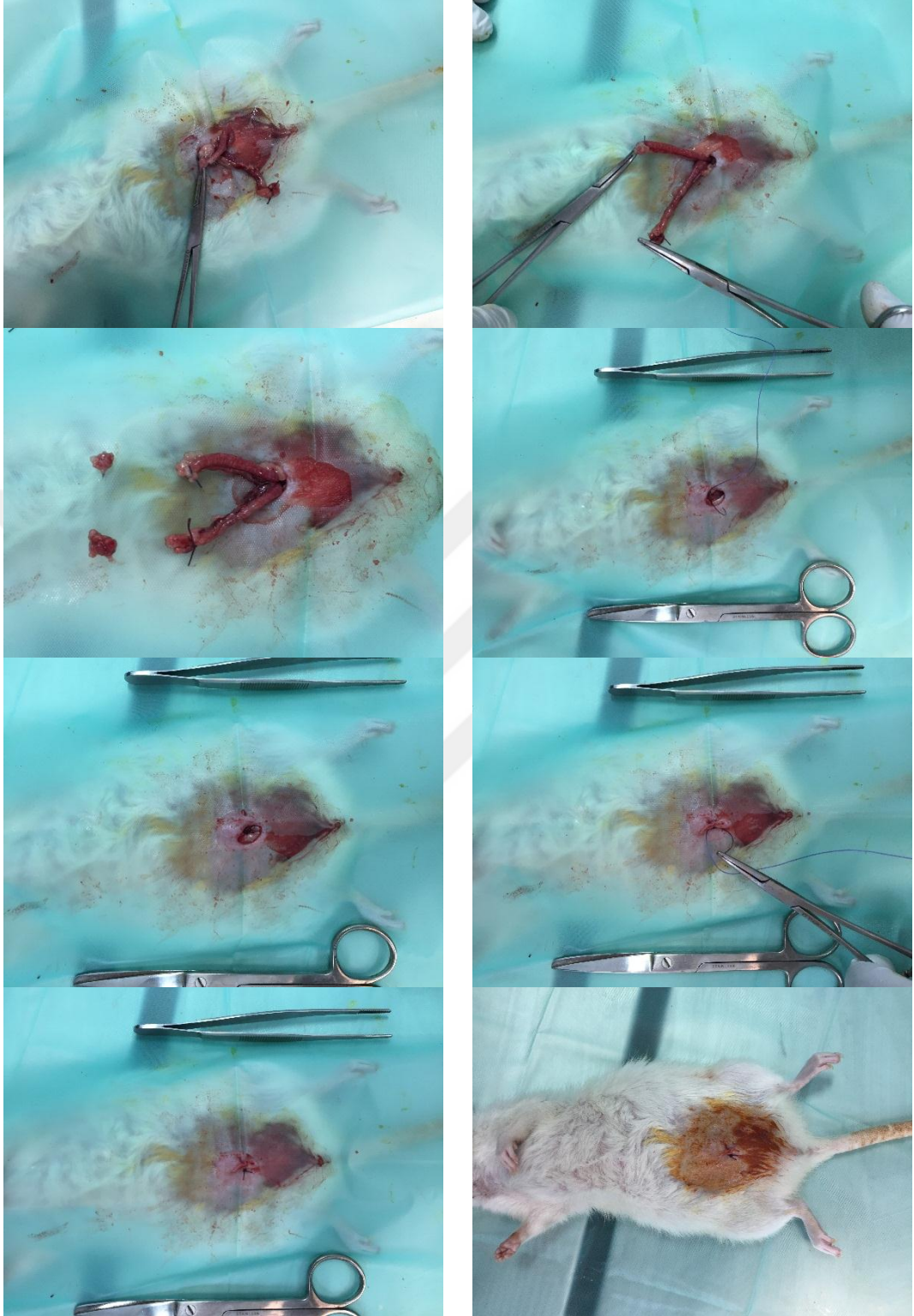
Sağ ve sol ovaryumların asıcı bağları ve damarları 3,0 vicryl iplik kullanılarak ligatüre edildi ve çıkarıldı.

Bu işlemden sonra periton ve kaslar basit sürekli, deri ise yatay U dikişi ile dikildi.

Post operatif komplikasyonları önlemek amacıyla 4 gün süreyle antibiyotik (vetimisin-vetaş) uygulandı. Operasyondan sonra sıçanların ensizyon bölgesi peritonitis ve inflamasyon yönünden günlük olarak kontrol edildi. Operasyon sonrası hiçbir sıçanda herhangi bir komplikasyon şekillenmedi.



Resim 1a: Overektomi operasyonu basamakları

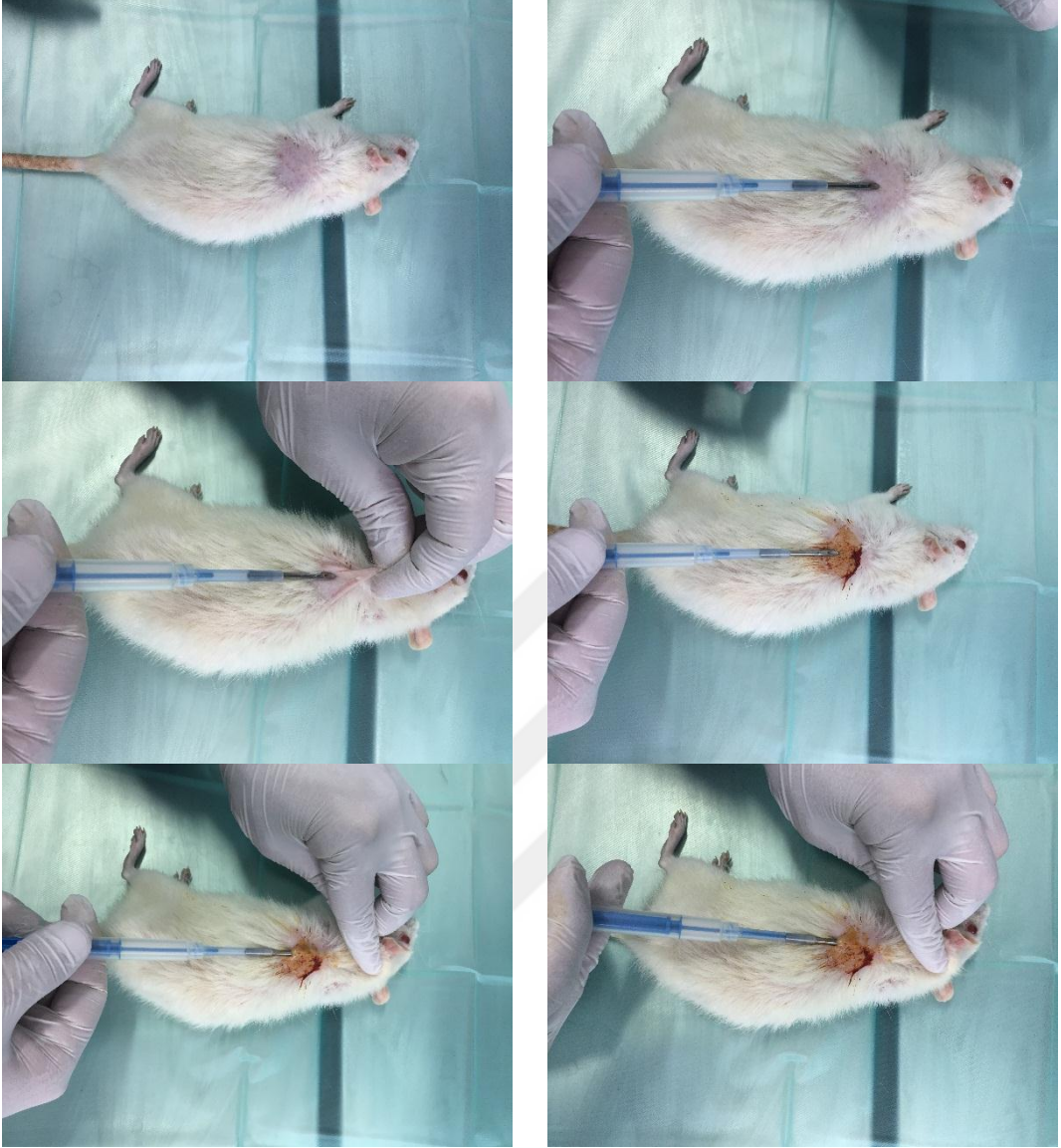


Resim 1b: Overektomi operasyonu basamakları

2.2.8. İmplant Uygulaması

Overektomi sonrasında hayvanlara 21 gün boyunca tedavi amacı ile kontrollü bir şekilde 17 β -estradiol uygulandı. Bu uygulama için hem daha pratik olması hem de kontrollü bir şekilde vücuda salınması amacıyla ticari bir firmadan (Innovative Research of America) temin edilen 0,5 mg 17 β -estradiol içeren 21 gün etkili deri altı implantı kullanıldı.

İmplant uygulanmadan önce sıçanlara ketamin/ksilazin (35-50/5-10mg/kg) (Ketalar-Pfizer/Alfazyne %2-Ege-Vet) anestezisi uygulandı. Anestezi sonrası implant uygulanması için iki skapula arası bölge tıraş edildi ve bölgenin asepsisi sağlandı. Östrojen implantları uygulamak için ucunda implantın yerleşebileceği büyüklükte kanülü olan bir aparat kullanıldı. Her uygulama sonrasında aparat ucunda bulunan kanül değiştirildi. Aparatın kanülüne östrojen implantlar yerleştirildi ve deri altı olacak şekilde iki skapula arası bölgeye bırakıldı. Daha sonra bölge kanama yönünden kontrol edildi ve antiseptik ile bölge temizlenerek herhangi bir dikiş uygulaması yapılmadı. Bölge implant sonra 3 gün komplikasyon yönünden kontrol edildi. Kontroller sonrası bölgede herhangi bir komplikasyon şekillenmedi. Yapılan uygulama Resim 2'de gösterilmiştir.



Resim 2: 17 β -estradiol implantının deri altına uygulanması

2.2.9. Rotarod Testi Uygulanması

Çalışma sonunda hayvanlardaki motor aktivite ve denge düzeylerini değerlendirmek için rotarod testi uygulandı. Deneyin yapılabilmesi için Bohlen ve ark. (2009) belirtmiş oldukları düzenek örnek alınarak benzer bir düzenek oluşturuldu. Düzeneğin yapımında yükseklik ve hayvanların koşacakları çemberin çapları literatüre bağlı kalınarak oluşturuldu. Ayrıca yapılan düzeneğin dönüş hızının farklı Rpm'lere ayarlanabilmesine dikkat edilerek ayarlama düğmesi konuldu.

Yapılan mekanizma ilk gün hayvanlar 5 Rpm'den 40 'Rpm'e kadar denendi ve en yüksek koşabilme yetenekleri 30 Rpm olarak tespit edildi. Bu bağlamda hayvanlara 5 gün boyunca hazırlanan rotarod düzeneğinde 30 Rpm'de koşmaları öğretilti. 6. gün ise hayvanlara hiçbir müdahale yapılmadan tek mekanizmaya koyuldu ve koşu bandından düşme süreleri kaydedildi. Yapılan uygulamalar fotoğraflanarak Resim 3'de gösterilmiştir.



Resim 3: Rotarod Testi Uygulanması

2.2.10. Pole Testi

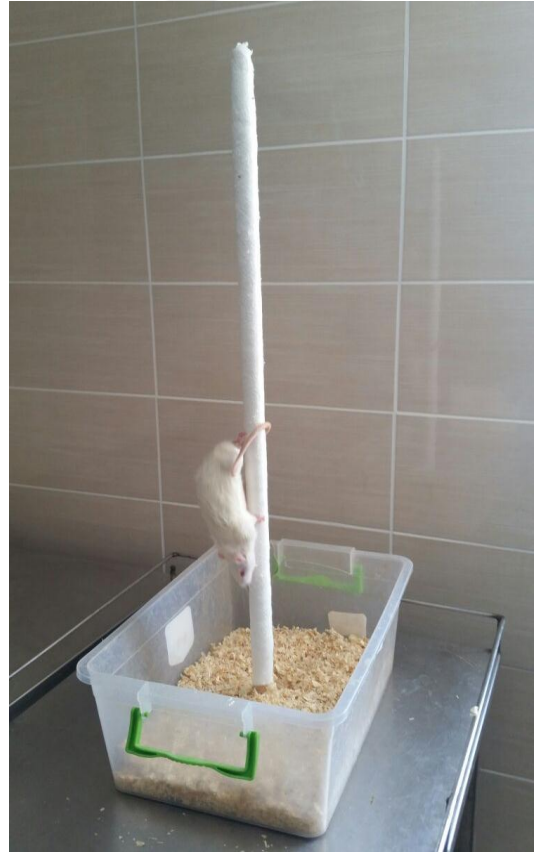
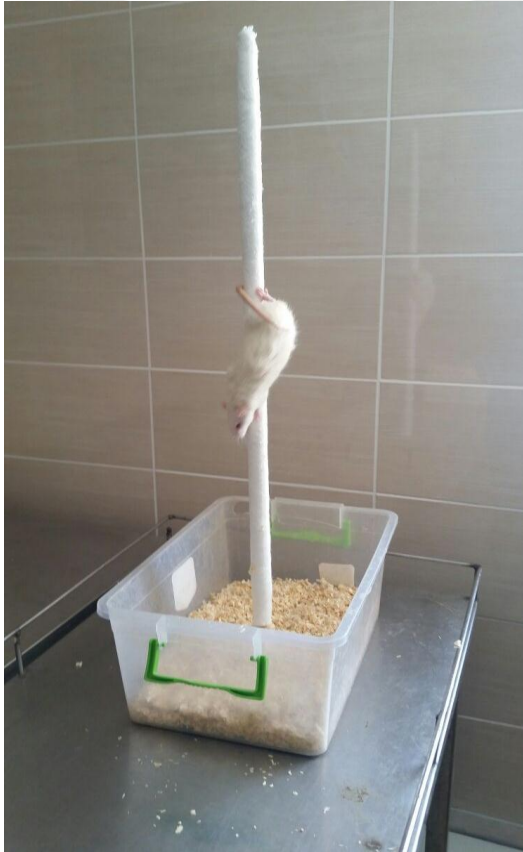
Çalışma sonunda bradikineziyi belirlemek amacıyla hayvanlara pole testi uygulandı. Hareketlerde yavaşlama anlamına gelen bradikinezi, genellikle hareketin başlatılmasında gecikme şeklinde tanımlanmaktadır. Bu gecikme süresinin uzaması bradikinezi şiddetinin arttığını anlamına gelmektedir.

Pole testi için Mann ve Chesselet (2015) yapmış oldukları çalışma dikkate alınarak yaklaşık olarak 0,8 cm çapında ve 50 cm uzunluğunda metal çubuk kullanıldı. Hayvanın çubuğa daha iyi tutunabilmesi ve hayvana zarar vermemesi için sargı bezi ile sarılarak uygun hale getirilmiştir.

Hayvanlar test için 3 gün boyunca çubukta tutunmaları ve yürüme alıştırdı. 4. gün ise hayvanlar kafaları yukarı gelecek şekilde çubuğun en yukarisına bırakılarak çubukta aşağı doğru dönüş süreleri ile çubuktan iniş süreleri kayıt altına alındı. Yapılan uygulamada kontrol ve Parkinson gruplarının farkının belli olması amacıyla fotoğraflanarak Resim 4 ve Resim 5’de gösterilmiştir.



Resim 4: Pole Testinde Parkinson Modeli Oluşturulan Grup



Resim 5: Pole testinde kontrol grubu

2.2.11. Yüzdürme Testi

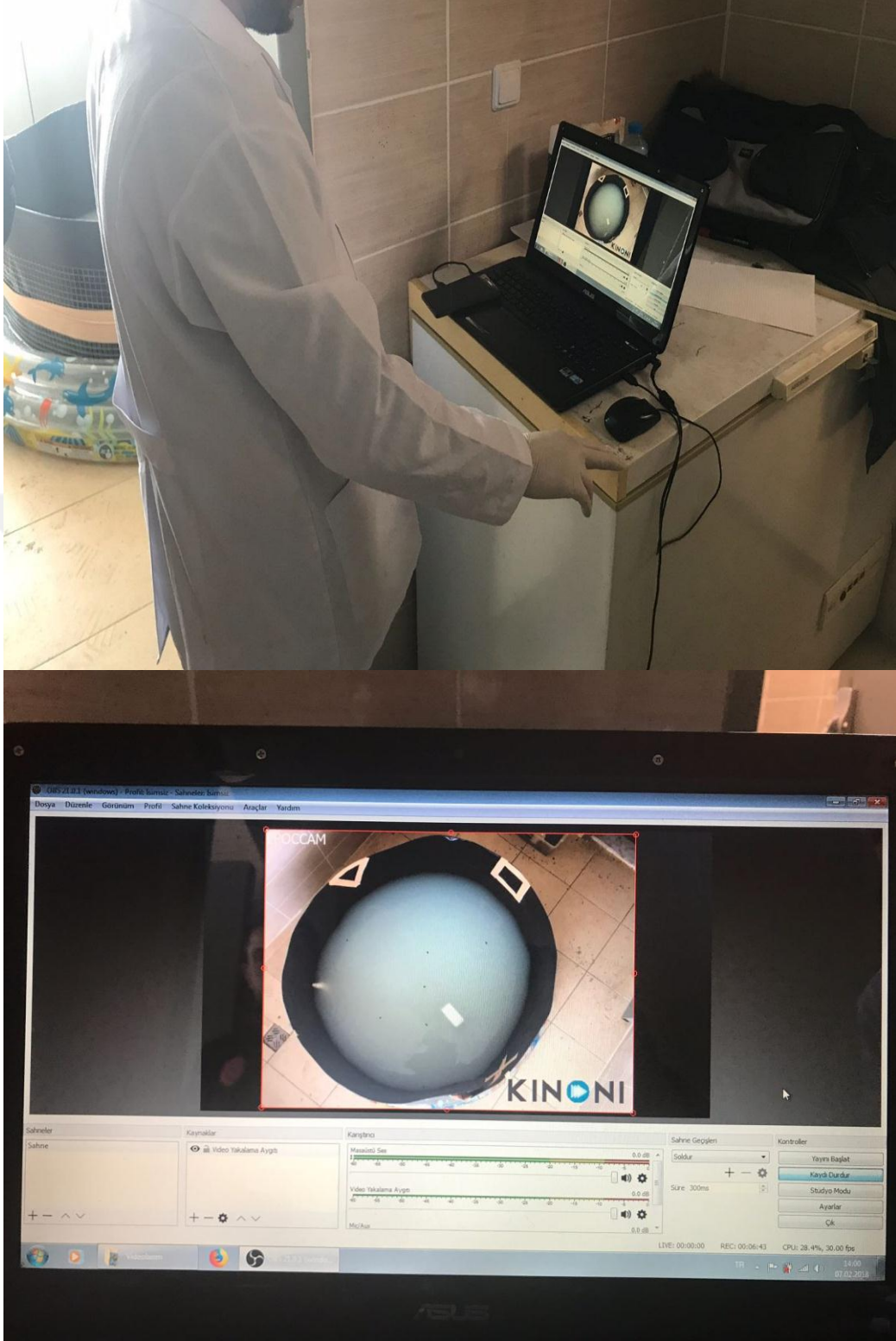
Bu testte, oluşturulan model sonrasında hayvanlardaki motor aktivite ile öğrenme-bellek düzeylerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla Morris'in (1983) yapmış olduğu yüzdürme havuzu rehber alınarak oluşturuldu.

Yüzdürme testi için 150 cm çapında ve 60 cm derinliğinde bir havuz kullanıldı. Hayvanların, yön bulabilmesi ve platformun yerini öğrenebilmesi için iç kısmından görebileceği şekilde havuzun yönleri belirlenerek doğu, batı ve kuzey yönüne gelecek şekilde üçgen, kare ve çarpı işaretleri yerleştirildi. Havuzun doğu tarafına ortaya yakın olacak bir şekilde 10x20 cm genişliğinde platform yerleştirildi. Havuz 30 cm derinliğinde (27°C) su ile dolduruldu. Suyun berraklığını gidermek ve platformun görünmesini engellemek amacı ile suya bir miktar süt tozu ilave edildi.

Yüzdürme testi için platform 5 gün boyunca suyun 2 cm yukarısında kalacak şekilde ayarlandı. Hayvanlar her zaman güneyden olacak şekilde aynı noktadan bırakılarak 5 gün boyunca platformu bulması öğretildi. Öğretme aşamasında ilk 1 dakikada bulamayan sıçanlara yardım edilerek platformu bulmaları ve yerini öğrenmeleri sağlandı. 6. Gün ise platform suyun 1 cm altına batırılarak teste geçildi. Yine aynı şekilde güneyden aynı noktadan bırakıldı ve hiç müdahale edilmeden sıçanların platformu bulma zamanları kaydedildi. Uygulama aşaması an ve an yukarıya yerleştirilen kamera ile kayıt altına alındı. Yapılan uygulamalar fotoğraflanarak Resim 6 ve Resim 7'de gösterilmiştir.



Resim 6: Yüzdürme testinin uygulanışı

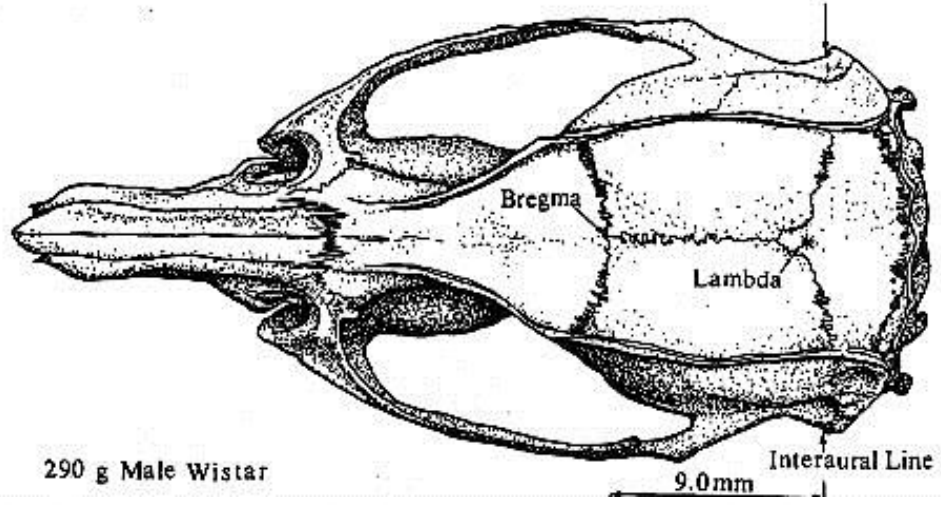


Resim 7: Yüzdürme testinin kayıt altına alınması

2.2.12. Örneklerin Alınması

Çalışma sonunda hayvanlara bir gece boyunca besin verilmeyerek sonunda ketamin/ksilazin (35-50/5-10mg/kg) ile uyutulduktan sonra hayvanın yaşamına etik kurallara uygun bir şekilde servikal omur dislokasyonu ile son verildi. Hayvanlarda overektomi ve implant uygulanmasına yönelik herhangi bir enfeksiyon rastlanmadı.

Histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için ayrılan beyin substantia nigra (SN) ve striatum (STR) doku izolasyonu için kafatası üzerindeki bregma (Şekil 14, Resim 8) noktası belirlenerek beyin dokusunda işaretleme yapıldı. Daha sonra çıkarılan beyin dokusu işaretlenen bregma noktasından anterior -3.95 ile -6.45 arası substantia nigra, anterior -3.01 ile 3.24 arası striatum olarak belirlenerek izolasyonu yapıldı. Her bir hayvan bir lobunda çıkarılan SN ve STR histopatolojik olarak kullanılmak üzere %10 formole bırakıldı. Diğer lobundan alınan SN ve STR ise biyokimyasal analiz için fosfat tampon çözeltisi (PBS) ile 10 kat sulandırılarak buz üzerinde, 12.000 rpm'de 2 dakika boyunca homojenizatör ile homojenize edildi. Homojenatlar, 15000 rpm'de 4°C derecede 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant kısmı biyokimyasal analiz yapılacağı güne kadar (1 hafta) -20°C'de saklandı.



Şekil 14: Bregma ve lambda noktası (Anonim 5)

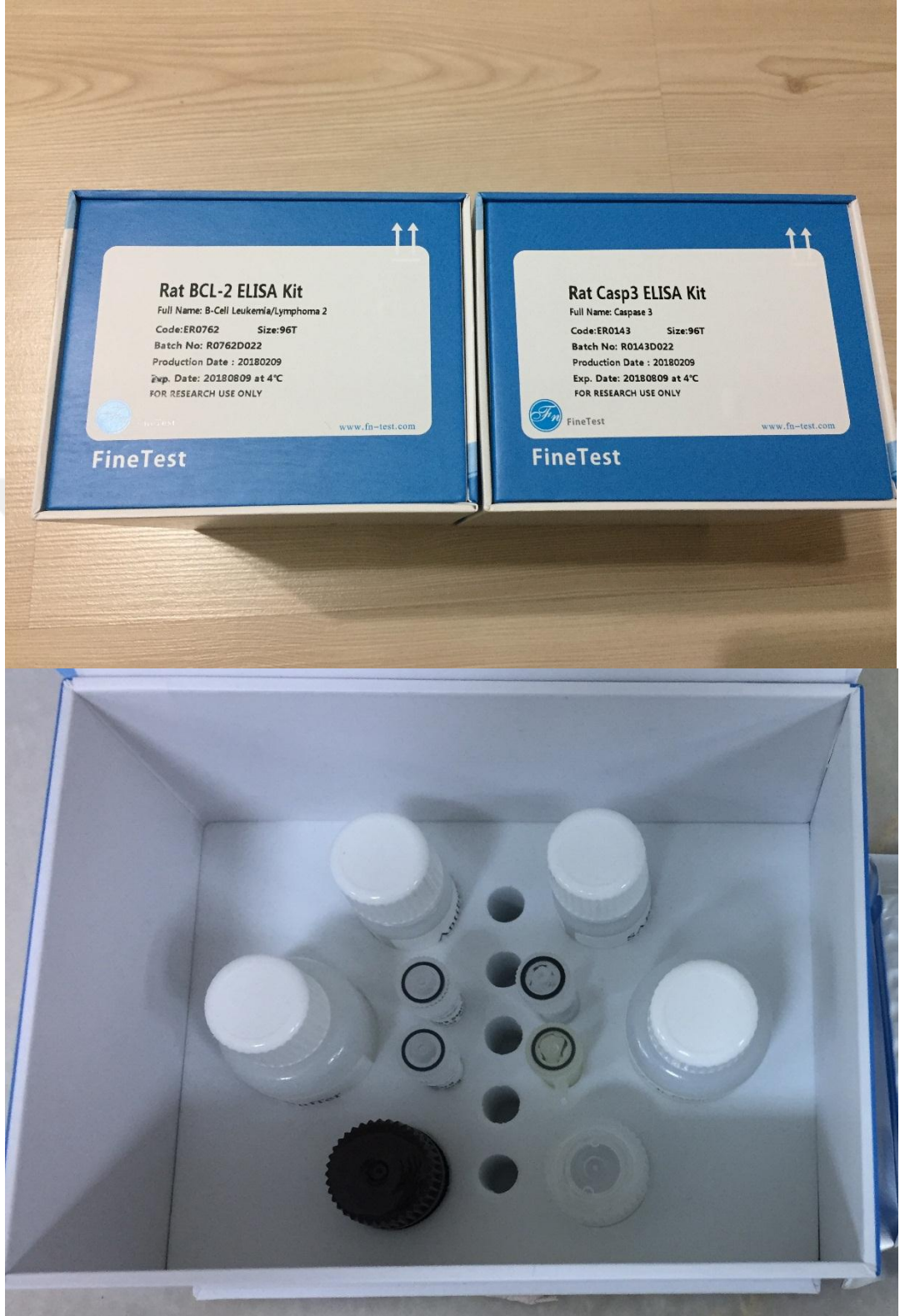


Resim 8: Bregma noktasının işaretlenmesi

2.2.13. Biyokimyasal Analiz

Doku örneklerinde Bcl-2 ve Kaspaz-3 düzeyleri Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) ticari kitleri (Resim 9) ile ELISA okuyucu kullanılarak aşağıdaki protokole göre belirlendi;

- Önceden kaplanmış plate üzerinde kontrol, standart ve örnek kuyucuklarını ayarlandı ve yerleri kaydedildi. Daha sonra standart, numune ve kontrol kuyucuklara eklenmeden önce plate yıkayıcı ile plate 2 kez yıkama işlemi yapıldı.
- Standart, Kontrol (Standart seyreltme tamponu) ve örnekler kuyucuklara 0,1 mL tek kullanımlık uçlar ile eklendi.
- Plate üzeri kapatılarak 37°C'de 90 dakika inkübe edildi.
- Üzeri kapatılan plate açılarak plate yıkayıcı ile 2 kez yıkama işlemi yapıldı.
- Kuyucuklara 0,1 mL Biotin tespit antikoru çalışma solüsyonu eklendi.
- Plate üzeri kapatılarak 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
- Üzeri kapatılan plate açılarak plate yıkayıcı ile 3 kez yıkama işlemi yapıldı.
- Her bir kuyucuğa 0,1 mL SABC çalışma solüsyonu eklendi ve Plate üzeri kapatılarak 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.
- Üzeri kapatılan plate açılarak plate yıkayıcı ile 5 kez yıkama işlemi yapıldı ve her yıkama arasında kuyularda tampon kalması için 1-2 dakika beklendi.
- Her kuyucuğa 90 µL TMB substratı eklendi, Plate üzeri kapatılarak 37°C'de 15-20 dakika karanlıkta inkübe edildi.
- Her kuyucuğa 50 µL Stop solüsyonu eklendi ve plate çalkalayıcı ile iyice karıştırıldı. Rengin hemen sarıya dönüştüğü gözlemlendi.
- Her kuyucuğun absorbans değerleri 450 nm'de mikropate okuyucu ile belirlendi.



Resim 9: Bcl-2 ve Kaspaz-3 ELISA Kitleri

2.2.14. İmmunohistokimyasal İncelemeler

Deneme süresinin sonunda hayvanların sistemik nekropsileri yapıldı. Sıçanların beyinlerinden alınan doku örnekleri %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Rutin işlemlerin ardından hazırlanan parafin bloklardan Hematoksilen-Eosin (HE) boyaması için 5 µm, immunohistokimyasal boyamaları için ise poly-L-lysin ile kaplanmış lamlara 4 µm kalınlığında olmak üzere her örnekten 5'er adet seri kesit alındı.

Çalışmada Avidin-Biotin Peroksidaz metodu immunohistokimyasal yöntem (IHC) olarak kullanıldı. İmmunohistokimyasal boyamalar için alınan kesitler, rehidratasyon işleminden geçirildi. Takibinde endojen peroksidaz aktivitesini önlemek amacıyla kesitler % 3'lük hidrojen peroksit solüsyonu ile 15 dakika muamele edildi. Daha sonra antijenik reseptörlerin açığa çıkarılması amacıyla kesitlere mikrodalga yöntemi uygulandı (Citrata Buffer Solüsyonu pH 6, 25 dk süreyle). Nonspesifik boyamaları engellemek amacıyla kesitler 30 dakika süreyle non immun serum (Genemed Biotechnologies, 54-0003) ile inkübe edildi. Takibinde Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PBS)'nde değişik oranlarda sulandırılmış primer antikorlar ile 1 saat süresince oda ısısında inkübe edildi (bkz. Tablo 6). PBS solüsyonunda 5'er dakika olmak üzere 3 kez yıkanan kesitlere biyotinize sekonder antikor (Genemed Biotechnologies, , 54-0003) 30 dakika süresince oda ısısında uygulandı. PBS'de yıkama işleminin ardından (5'er dakika 3 kez) tüm kesitler peroksidaz bağlanmış Strep Avidin (Genemed Biotechnologies, , 54-0003) ile oda ısısında 30 dakika süreyle inkübe edildi. Renk ortaya çıkarıcı substrat olarak 3.3-diaminobenzidin tetra hidroklorid (DAB) solüsyonu (Genemed Biotechnologies, 10-0048) kullanıldı. Boyanan kesitler immun mount ile kaplandı ışık mikroskopunda (Olympus Bx53) incelendi. Cell ^P programı Fotoğrafların analizleri Image J programı (1.51j8) ile yapıldı.

Tablo 6: Primer Antikorlar ve Dilüsyon Oranları

Spesifite	Klon – Firma	Dilüsyon Oranları
TH	TH Monoclonal Antibody, (F-11) sc-25269, Santa Cruz	1:100
Kaspaz 3	Kaspaz 3 Polyclonal Antibody, bs-0081R, Bioss Antibodies	1:200

İmmunohistokimyasal boyama sonuçlarının analizi; Substantia nigra bölgesinde TH- immunoreaktivitesi incelenen ve boyanma karakterini en iyi yansıtan alanlardaki pozitif hücre sayısı, striatum bölgesinde ise immun pozitif boyanan nöronal fibriller alanlar baz alınarak oluşturulan derecelendirme sistemi ile yapıldı. Dokudaki immun boyamanın kantifikasyonu için analize yüksek yoğunlukta reaksiyon alanları baz alınarak başlandı. Her örnek için toplam 100'lük büyütmede 10 ayrı alan incelendi. Substantia nigra bölgesinden alınan kesitlerde pozitif boyanan hücrelerin sayıları, striatum bölgesinden alınan kesitlerde pozitif boyanan fibriller alanlar kaydedildi ve bu 10 sahanın ortalaması o hayvanın verisi olarak alındı.

2.2.15. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 18 (SPSS®, Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında One Way ANOVA ve Tukey HSD testi kullanıldı ve sonuçlar $\bar{x} \pm S\bar{x}$ olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmelerde $p < 0,05$ ve daha küçük değerler önemli olarak kabul edildi (Tekin 2010).

3. BULGULAR

3.1. Motor Aktivite Bulguları

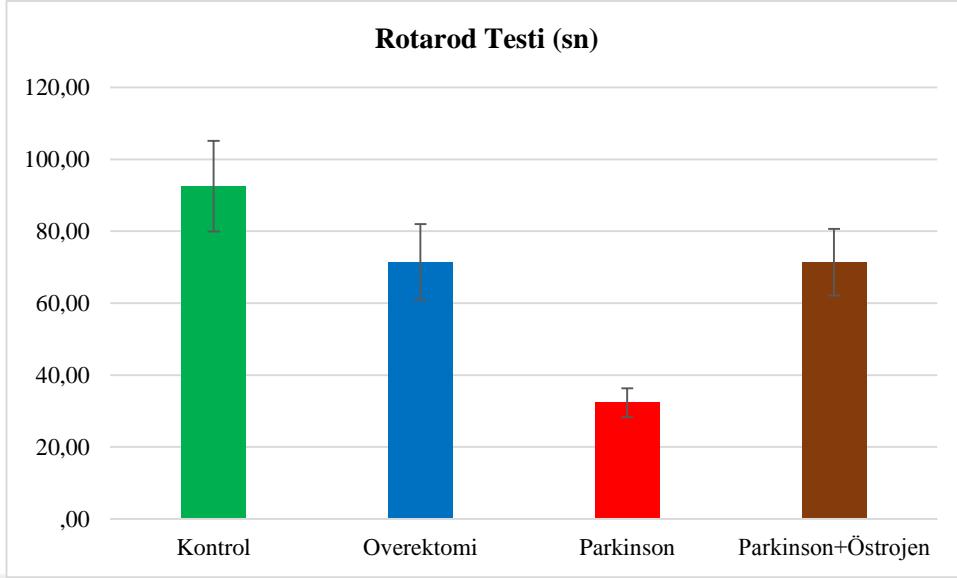
3.1.1. Rotarod Testi Bulguları

Rotarod testi ile mekanizma üzerinde koşma ya da mekanizmadan düşme süreleri değerlendirildi. Değerlendirilen bu verilereler göre kontrol grubunda $92,50 \pm 12,60^a$ sn, overektomi grubunda $71,42 \pm 10,58$ sn, Parkinson grubunda $32,33 \pm 3,98$ sn, Parkinson+östrojen grubunda ise $71,37 \pm 9,26$ sn olarak bulunmuştur. Bulunan verilere göre Parkinson grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). Elde edilen veriler ayrıca tablo ve grafik olarak aşağıda verilmiştir (Tablo 7, Grafik 1).

Tablo 7: Çalışma Gruplarında Rotarod testi bulguları

Gruplar n:8	Düşme ve koşma süresi (sn) $\bar{x} \pm S\bar{x}$
Kontrol	$92,50 \pm 12,60^a$
Overektomi	$71,42 \pm 10,58^a$
Parkinson	$32,33 \pm 3,98^b$
Parkinson+östrojen	$71,37 \pm 9,26^a$
p değeri	$p < 0,05$

a,b: Gruplar arasındaki istatistiksel farkı belirlemek için kullanılmıştır. Farklı harf alan gruplar arasında istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0,05$). Aynı harf atanmış gruplar arasında istatistiksel fark yoktur ($p < 0,05$).



Grafik 1: Çalışma Gruplarında Rotarod testi sonuçları

3.1.2. Pole Testi Bulguları

Çalışma sonunda Pole Testi ile çubuk üzerinde aşağıya doğru dönüş süreleri ile aşağıya iniş süreleri değerlendirildi.

Değerlendirilen verilere göre grupların dönüş süreleri kontrol grubunda $2,98 \pm 0,38$ sn, overektomi grubunda $3,02 \pm 0,75$ sn, Parkinson grubunda $5,91 \pm 0,33$ sn, Parkinson+östrojen grubunda ise $3,48 \pm 0,42$ sn olarak bulunmuştur. Bu verilere göre Parkinson grubu ile diğer gruplar arasında göre istatistiksel anlamda önemli fark olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

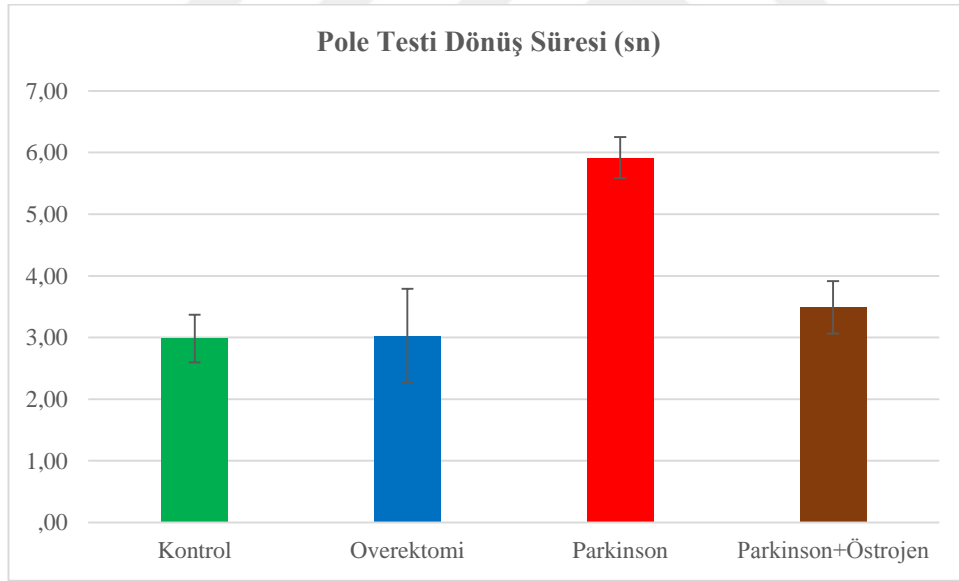
Pole testi sonuçlarına göre iniş süreleri verileri kontrol grubunda $5,30 \pm 0,59$ sn, overektomi grubunda $5,45 \pm 0,73$ sn, Parkinson grubunda $9,80 \pm 0,90$ sn, Parkinson+östrojen grubunda ise $5,37 \pm 1,02$ sn olarak bulunmuştur. Elde edilen verilere göre Parkinson grubunun diğer gruplara göre istatistiksel anlamda önemli fark olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

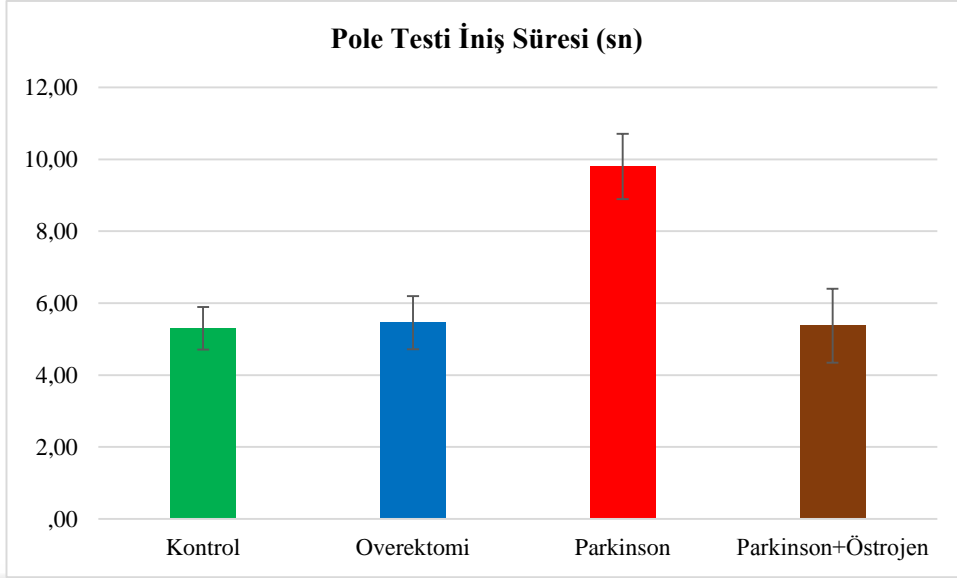
Ayrıca pole testi dönüş ve iniş süreleri tablo 8'de verildi. Aynı zamanda dönüş süresi (Grafik 2) ve iniş süresi (Grafik 3) grafiksel olarak verildi.

Tablo 8: Çalışma Gruplarında Pole Testi Dönüş ve İniş Süreleri Dağılımları

Gruplar	Dönüş süresi (sn)	İniş süresi (sn)
n:8	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
Kontrol	2,98 \pm 0,38 ^a	5,30 \pm 0,59 ^a
Overektomi	3,02 \pm 0,75 ^a	5,45 \pm 0,73 ^a
Parkinson	5,91 \pm 0,33 ^b	9,80 \pm 0,90 ^b
Parkinson+östrojen	3,48 \pm 0,42 ^a	5,37 \pm 1,02 ^a
p değeri	p<0,05	p<0,05

a,b: Gruplar arasındaki istatistiksel farkı belirlemek için kullanılmıştır. Farklı harf alan gruplar arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0,05). Aynı harf atanmış gruplar arasında istatistiksel fark yoktur (p<0,05).

**Grafik 2:** Çalışma Gruplarında Pole testi dönüş süresi



Grafik 3: Çalışma Gruplarında Pole Testi İniş Süresi

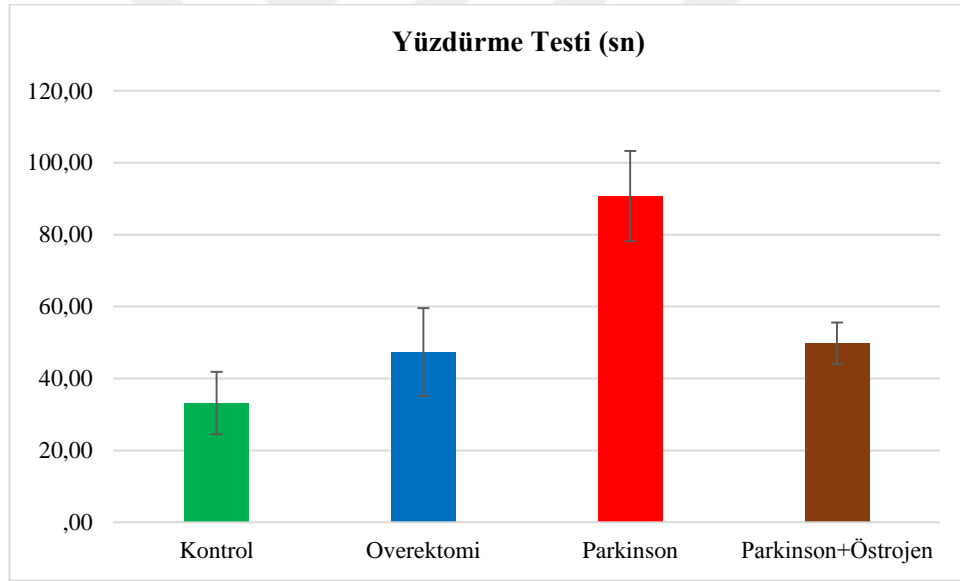
3.1.3. Yüzdürme Testi Bulguları

Bu testte yüzdürme havuzundaki platform bulma süreleri değerlendirildi. Bulunan verilere göre platform bulma süresi verileri kontrol grubunda $33,16 \pm 8,68$ sn, ovektomi grubunda $47,37 \pm 12,19$ sn, Parkinson grubunda $90,71 \pm 12,56$ sn, Parkinson+östrojen grubunda ise $49,82 \pm 5,78$ sn olarak tespit edildi. Elde edilen bu verilere göre Parkinson grubunun diğer gruplara göre istatistiksel anlamda önemli fark olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). Ayrıca bulunan veriler tablo ve grafik olarak aşağıda verilmiştir (Tablo 9, Grafik 4).

Tablo 9: Çalışma Gruplarında Yüzdürme testi bulguları

Gruplar	Platform Bulma Süreleri (sn)
n:8	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
Kontrol	33,16 \pm 8,68 ^a
Overektomi	47,37 \pm 12,19 ^a
Parkinson	90,71 \pm 12,56 ^b
Parkinson+östrojen	49,82 \pm 5,78 ^a
p değeri	p<0,05

a,b: Gruplar arasındaki istatistiksel farkı belirlemek için kullanılmıştır. Farklı harf alan gruplar arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0,05). Aynı harf atanmış gruplar arasında istatistiksel fark yoktur (p<0,05).

**Grafik 4:** Çalışma Gruplarında Yüzdürme testi bulguları

3.4. Biyokimyasal Bulguları

3.4.1. Kaspaz-3 Analiz Bulguları

Beyin dokusu örneklerinin hem substansia nigra (SN) hemde striatumda (STR) Kaspaz-3 analizleri yapıldı.

SN Kaspaz-3 verilerine göre kontrol grubunda $15,34 \pm 0,07$ ng/ml, overektomi grubunda $15,99 \pm 0,19$ ng/ml, Parkinson grubunda $16,49 \pm 0,07$ ng/ml, Parkinson+östrojen grubunda ise $15,68 \pm 0,14$ ng/ml olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile Parkinson ve Overektomi grubu arasında istatistiksel olarak oldukça önemli bir fark olduğu tespit edildi ($P=0,000$). Aynı şekilde Parkinson grubu ile Parkinson+östrojen grubu arasında da oldukça önemli fark bulundu ($P=0,000$). Kontrol ile Parkinson+östrojen grubu ve Parkinson ile overektomi grupları arasında ise istatistiksel fark tespit edilmedi ($p<0,05$).

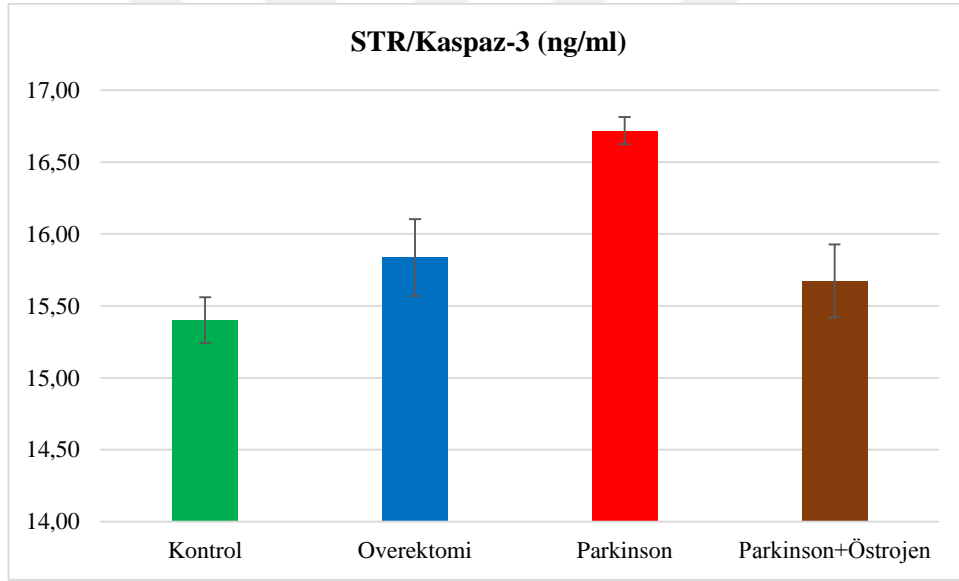
STR kaspaz-3 sonuçlarına göre kontrol grubu $15,13 \pm 0,14$ ng/ml, overektomi grubu $15,26 \pm 0,28$ ng/ml, Parkinson grubu $16,38 \pm 0,20$ ng/ml ve Parkinson+östrojen grubu ise $15,79 \pm 0,33$ ng/ml olarak tespit edilmiştir. Bu verilere göre Parkinson grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark tespit edildi ($p<0,05$). Parkinson+östrojen grubu, kontrol grubu ve overektomi grupları arasında ise istatistiksel olarak fark görülmemiştir ($p<0,05$).

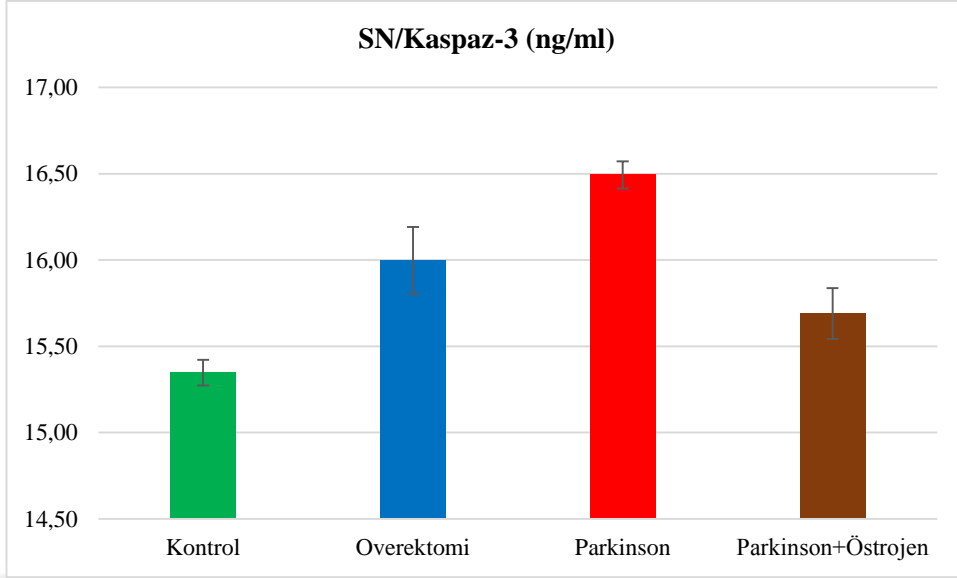
Ayrıca elde edilen veriler ayrıca tablo ve grafik olarak aşağıda verilmiştir (Tablo 10, Grafik 5, Grafik 6).

Tablo 10: Çalışma Gruplarında SN ve STR Kaspaz-3 bulguları

Gruplar	SN/Kaspaz-3 (ng/ml)	STR/Kaspaz-3 (ng/ml)
n:8	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
Kontrol	15,34 \pm 0,07 ^a	15,40 \pm 0,15 ^a
Overektomi	15,99 \pm 0,19 ^{bc}	15,83 \pm 0,26 ^a
Parkinson	16,49 \pm 0,07 ^c	16,71 \pm 0,09 ^b
Parkinson+östrojen	15,68 \pm 0,14 ^{ab}	15,67 \pm 0,25 ^a
p değeri	p=0,000	p<0,05

a,b, c: Gruplar arasındaki istatistiksel farkı belirlemek için kullanılmıştır. Farklı harf alan gruplar arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0,05). Aynı harf atanmış gruplar arasında istatistiksel fark yoktur (p<0,05).

**Grafik 5:** Çalışma Gruplarında STR Kaspaz-3 bulguları



Grafik 6: Çalışma Gruplarında SN Kaspaz-3 bulguları

3.4.2. Bcl-2 Analiz Bulguları

Beyin dokusu örneklerinin hem substansia nigra (SN) hemde striatumda (STR) Bcl-2 analizleri yapıldı.

SN Bcl-2 verilerine göre kontrol grubunda $0,43 \pm 0,06$ ng/ml, overektomi grubunda $0,34 \pm 0,02$ ng/ml, Parkinson grubunda $0,11 \pm 0,06$ ng/ml, Parkinson+östrojen grubunda ise $0,30 \pm 0,03$ ng/ml olarak tespit edilmiştir. Tespit edilen verilere göre Parkinson grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark tespit edildi ($p < 0,05$). Parkinson+östrojen grubu, kontrol grubu ve overektomi grupları arasında ise istatistiksel olarak fark görülmemiştir ($p < 0,05$).

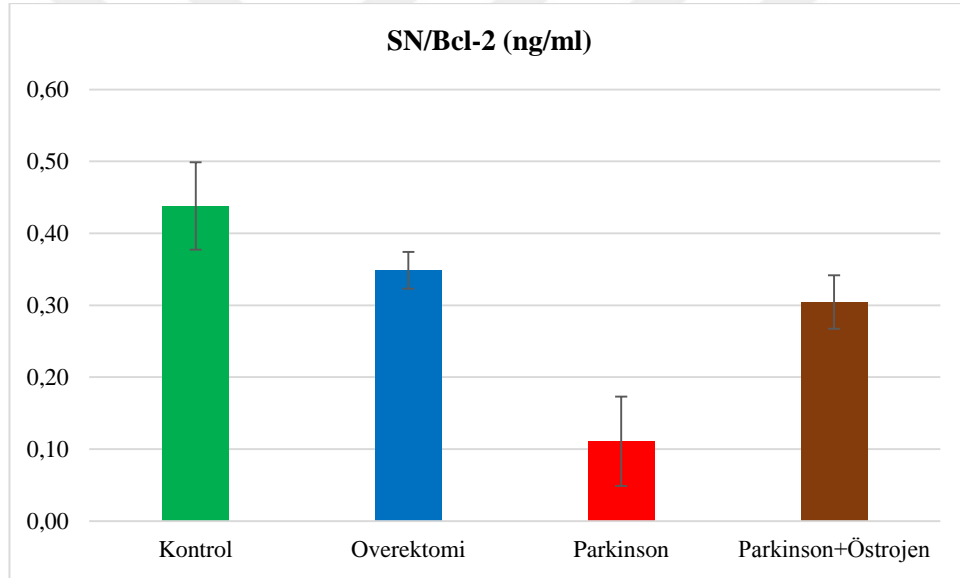
STR Bcl-2 sonuçlarına göre kontrol grubu $0,55 \pm 0,04$ ng/ml, overektomi grubu $0,52 \pm 0,03$ ng/ml, Parkinson grubu $0,40 \pm 0,02$ ng/ml ve Parkinson+östrojen grubu ise $0,48 \pm 0,02$ ng/ml olarak tespit edilmiştir. Bu verilere göre Parkinson grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark tespit edildi ($p < 0,05$). Parkinson+östrojen grubu ve overektomi grupları ile hiçbir grup arasında istatistiksel olarak fark görülmemiştir ($p < 0,05$).

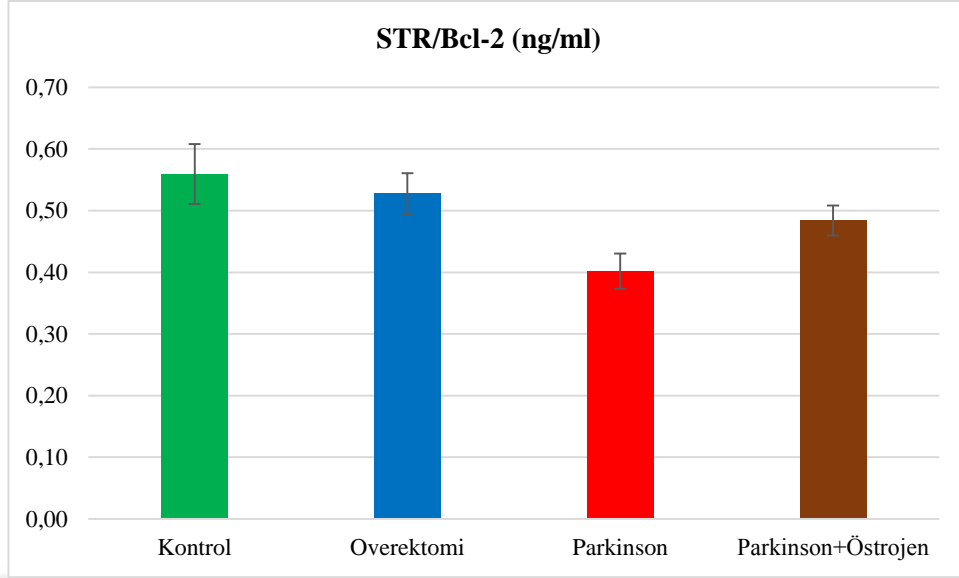
Ayrıca elde edilen veriler ayrıca tablo ve grafik olarak aşağıda verilmiştir (Tablo 11, Grafik 7, Grafik 8).

Tablo 11: Çalışma Gruplarında SN ve STR Bcl-2 bulguları

Gruplar	SN/Bcl-2 (ng/ml)	STR/Bcl-2 (ng/ml)
n:8	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
Kontrol	0,43 \pm 0,06 ^a	0,55 \pm 0,04 ^a
Overektomi	0,34 \pm 0,02 ^a	0,52 \pm 0,03 ^{ab}
Parkinson	0,11 \pm 0,06 ^b	0,40 \pm 0,02 ^b
Parkinson+östrojen	0,30 \pm 0,03 ^a	0,48 \pm 0,02 ^{ab}
p değeri	p<0,05	p<0,05

a,b : Gruplar arasındaki istatistiksel farkı belirlemek için kullanılmıştır. Farklı harf alan gruplar arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0,05). Aynı harf atanmış gruplar arasında istatistiksel fark yoktur (p<0,05).

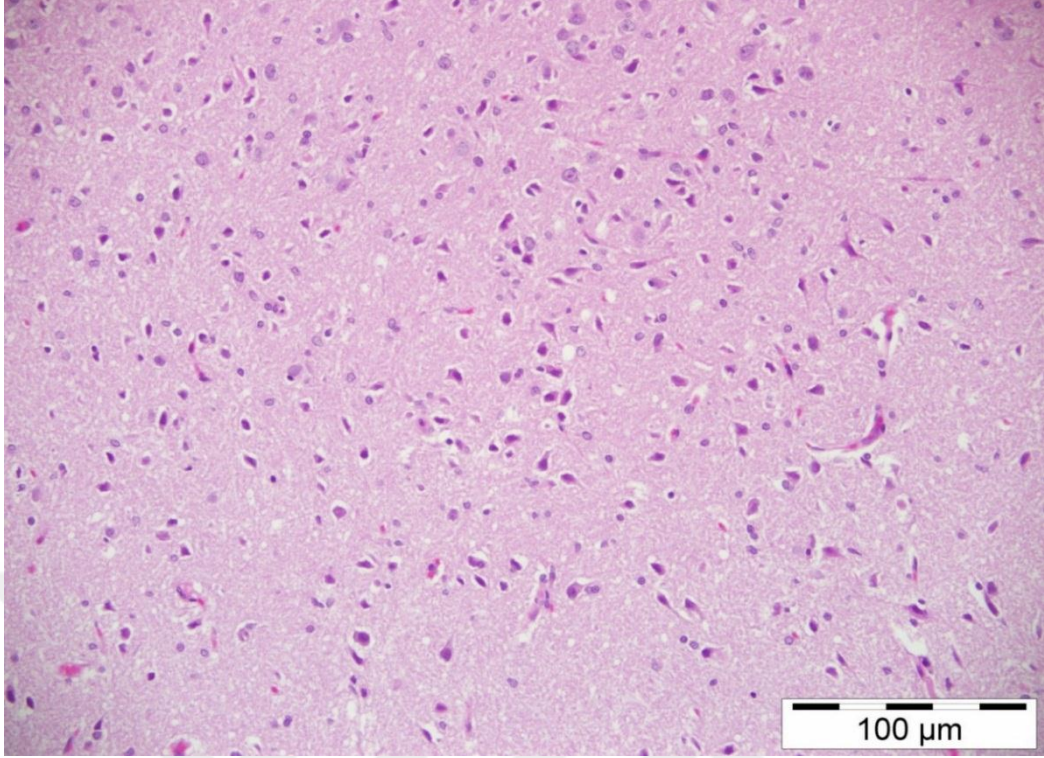
**Grafik 7:** Çalışma Gruplarında SN Bcl-2 bulguları



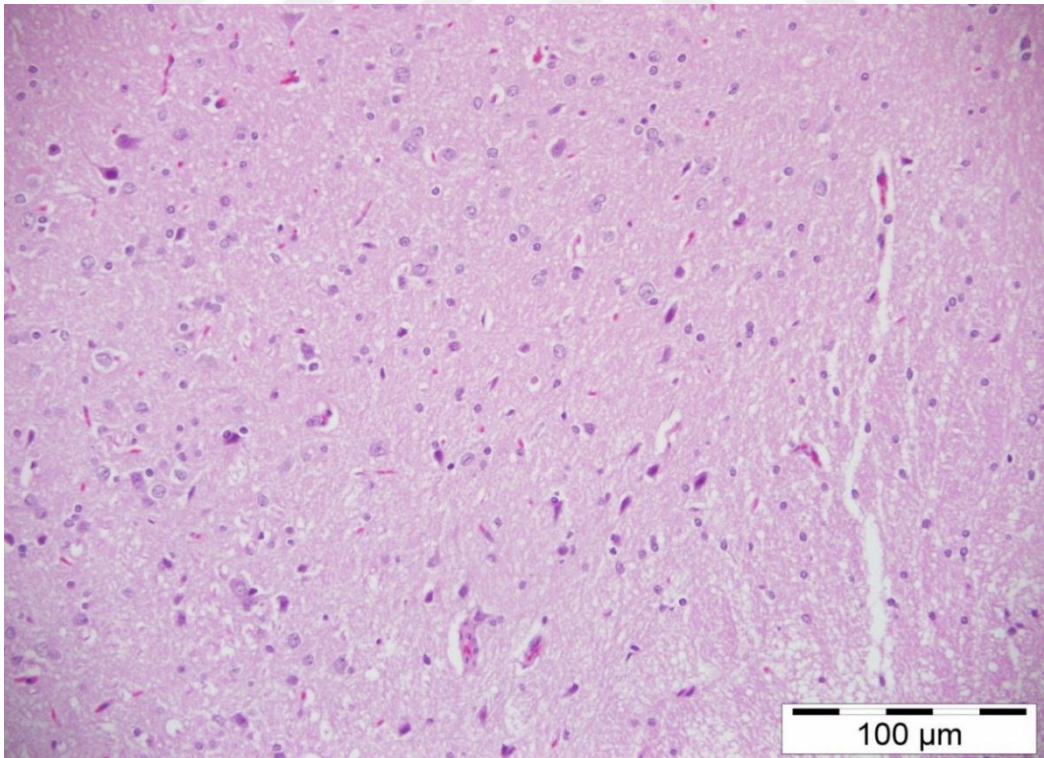
Grafik 8: Çalışma Gruplarında STR Bcl-2 bulguları

3.5. Histopatolojik Bulgular

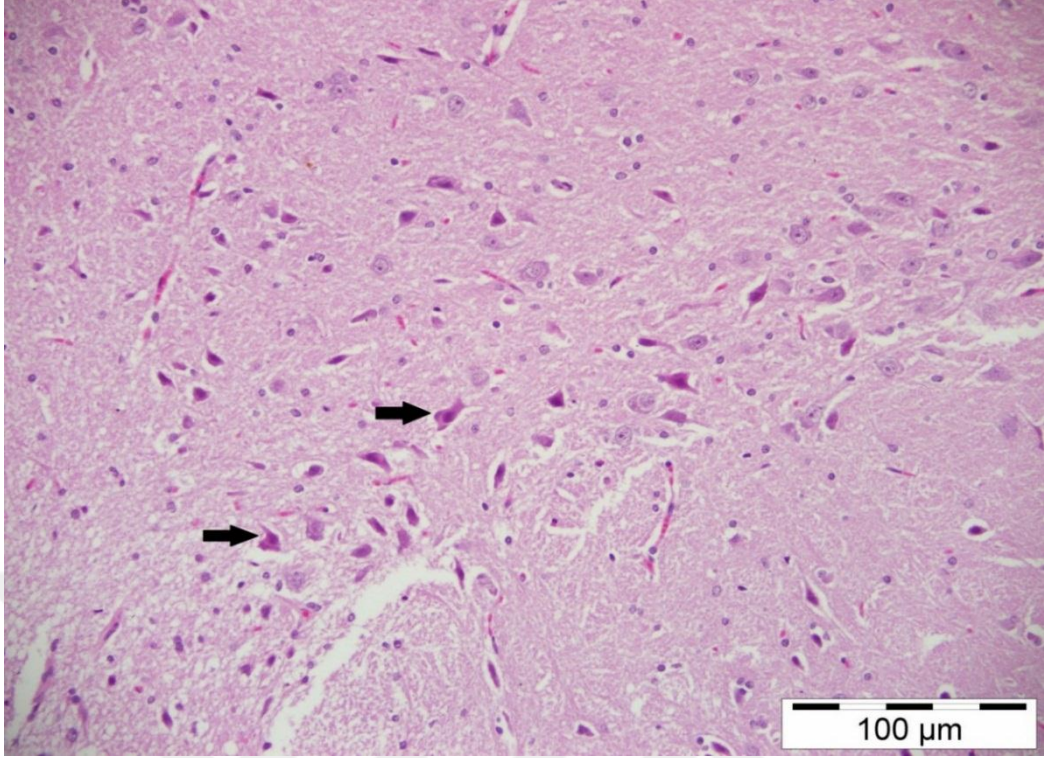
Kontrol grubu hayvanlarının beyinlerinin substantia nigra bölgelerinde herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı (Resim 10a). Overektomi grubu hayvanların beyinlerinde substantia nigra bölgelerinde nöron sayısında azalma gözlemlendi (Resim 10b). Parkinson grubu hayvanlarda substantia nigra'da nöronal dejenerasyon, santral kromatoliz, nöronofaji tespit edildi (Resim 10c). Parkinson + Östrojen grubunda nöron dejenerasyonu ve nöronofaji görülmekle birlikte Parkinson grubuna kıyasla dejenere nöron sayısı daha düşük olarak tespit edildi (Resim 10d). Parkinson grubunda daha belirgin olmak üzere, kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman diğer tüm gruplarda Substantia nigra bölgesinde nöron sayısının daha az olduğu gözlemlendi.



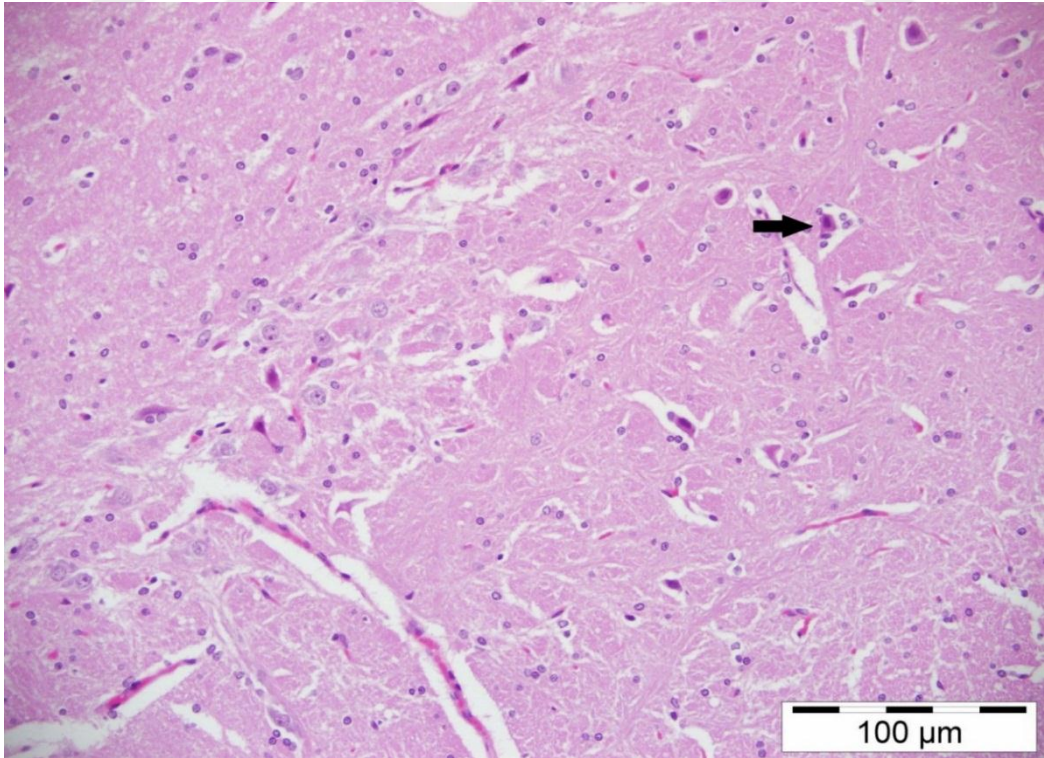
Resim 10a: Kontrol Grubu; Normal Beyin Dokusu, HE, Bar= 100 µm.



Resim 10b: Overektomii Grubu; Beyin Dokusu Substantia Nigra Bölgesi, Hüresellikte Azalma, HE, Bar= 100 µm.



Resim 10c: Parkinson Grubu; Substantia Nigra Bölgesi, Santral Kromatoliz (ok) ve Nöron Sayısında Azalma, HE, Bar= 100 µm.



Resim 10d: Parkinson+Östrojen Grubu; Substantia Nigra Bölgesi, Nöronofaji (ok) ve Nöron Sayısında Azalma, HE, Bar= 100 µm.

3.6. İmmunohistokimyasal Bulgular

Yapılan immunohistokimyasal boyamalar sonucunda; en yüksek düzeyde neuronal immunreaktivite gösteren grup kontrol grubu olarak tespit edildi. Substantia nigra ve striatum bölgelerine ait TH-pozitif immunoreaktivite sırasıyla Resim 11a-d ve Resim 12a-d'de gösterildi. Substantia nigra'da immunreaktivite gösteren ortalama nöron sayısı kontrol grubunda 116, Overektomi grubundan 42, parkinson grubunda 35 idi. Parkinson+östrojen grubunda ise 82 olarak belirlendi.

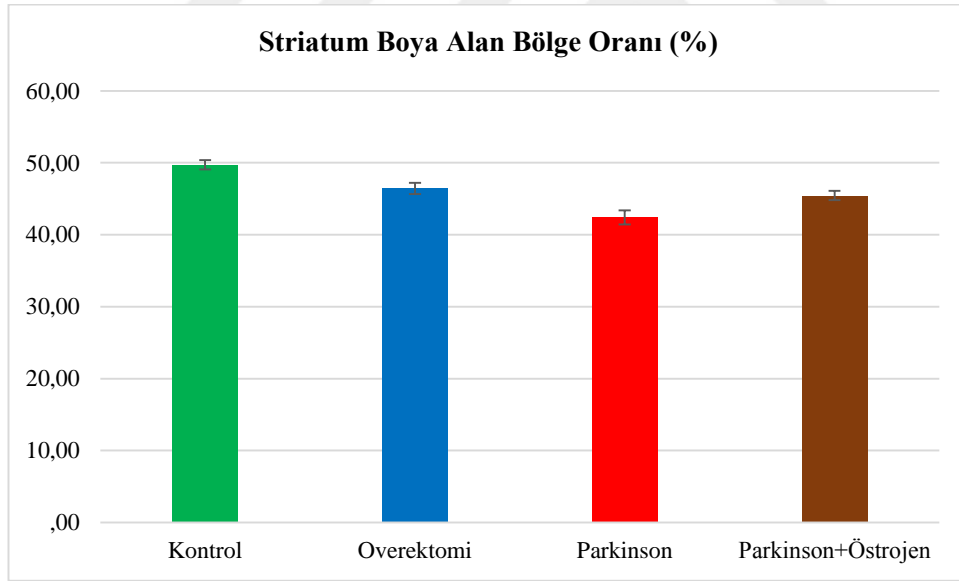
Striatum bölgesinde TH-immunreaktif fibrillerin ortalama alanı kontrol grubunda (Resim 12a) %49,74 iken, parkinson grubunda (Resim 12c) %42,41 olarak tespit edildi. Bu oran Parkinson + östrojen grubunda (Resim 12d) %45,44, Overektomi grubunda (Resim 12b) ise %46,44 idi. Bu bağlamda Parkinson grubu ile Kontrol grubunun hem kendi arasında hem de diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak oldukça önemli fark olduğu tespit edildi ($p<0,000$). Ayrıca veriler tablo ve grafik olarak verilmiştir (Tablo 12, Grafik 9).

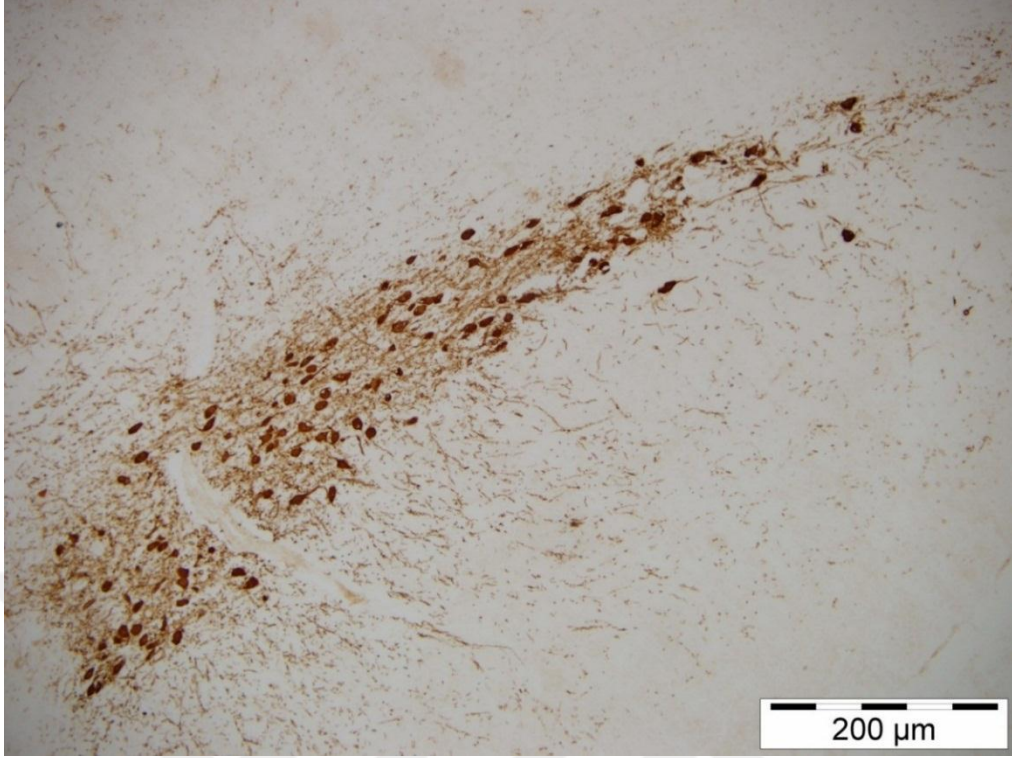
Apoptozun göstergelerinden biri olan ve efektör kaspaz olarak görev yapan Kaspaz 3 aktivitesini ortaya çıkarmak amacıyla Caspase-3 polikonal antikoru kullanılarak yürütülen immunohistokimyasal boyamalarda en yoğun kaspaz 3 aktivitesine Parkinson grubunda (Resim 13c) rastlanmıştır. Parkinson+Östrojen grubunda kaspaz-3 aktivitesinin düştüğü tespit edilirken (Resim 13d), kontrol (Resim 13a) ve Overektomi grubunda (Resim 13b) herhangi bir immunoreaktiviteye rastlanmamıştır.

Tablo 12: Çalışma Gruplarında Striatum boya alan bölge oranı verileri

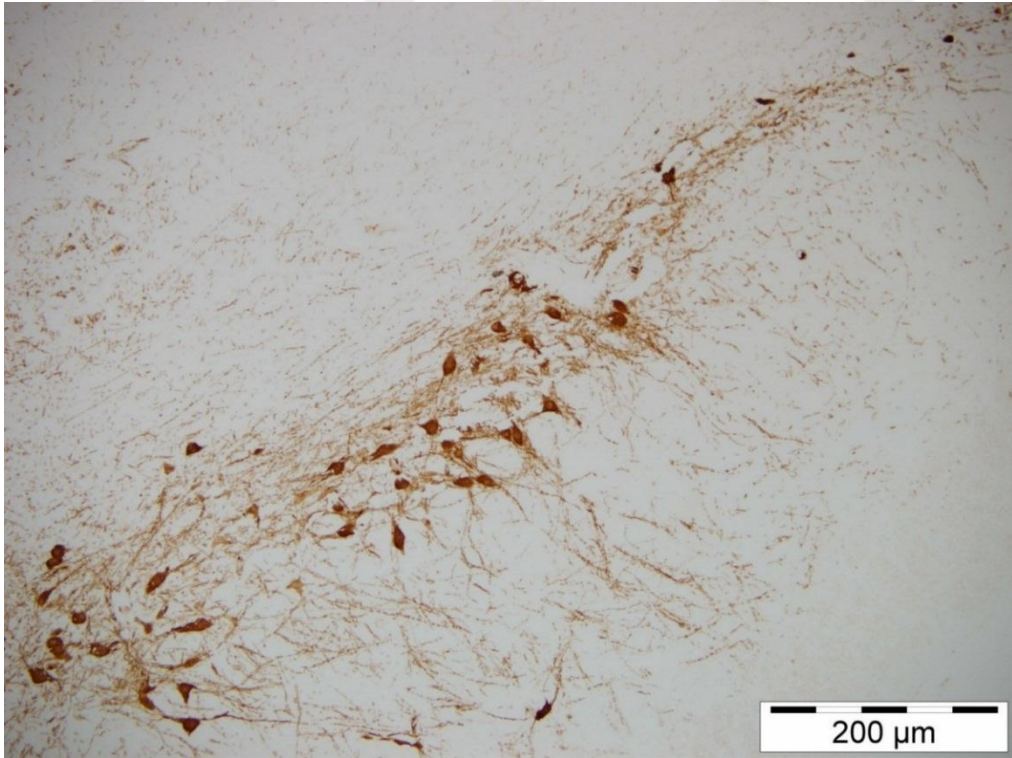
Gruplar	Striatum Boya Alan Bölge Oranı (%)
n:8	
Kontrol	49,74 ± 0,64 ^a
Overektomi	46,44 ± 0,77 ^b
Parkinson	42,41 ± 0,98 ^c
Parkinson+östrojen	45,44 ± 0,64 ^b
p değeri	p<0,000

a,b, c: Gruplar arasındaki istatistiksel farkı belirlemek için kullanılmıştır. Farklı harf alan gruplar arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0,05). Aynı harf atanmış gruplar arasında istatistiksel fark yoktur (p<0,05).

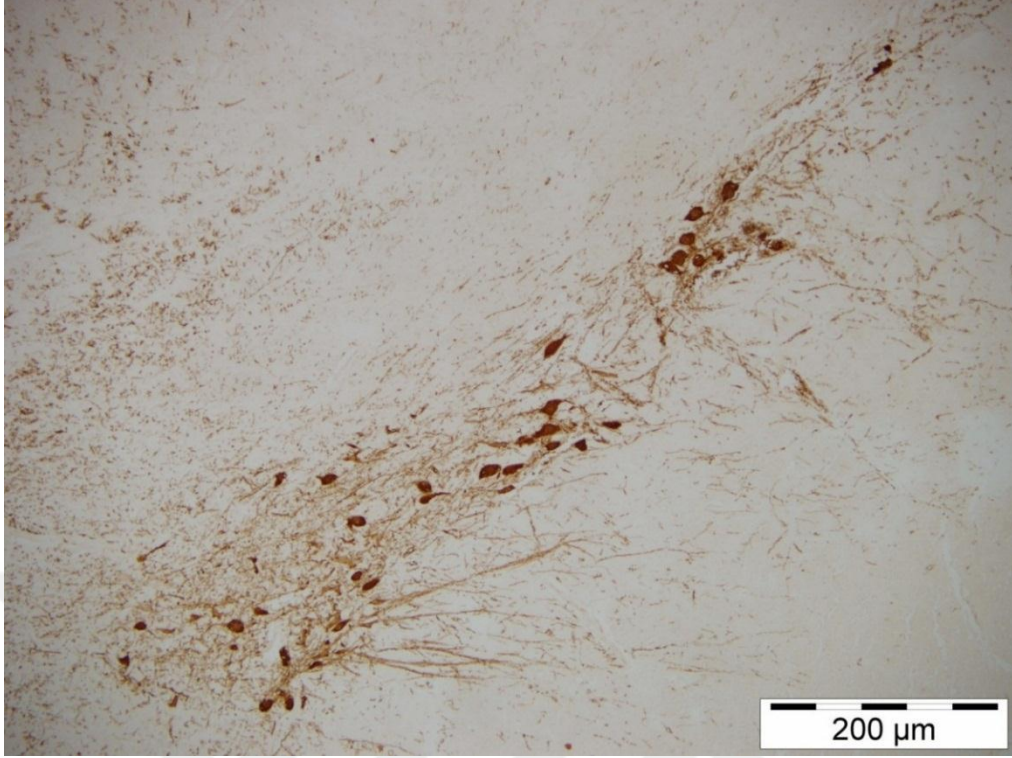
**Grafik 9:** Çalışma Gruplarında Striatum boya alan bölge oranı



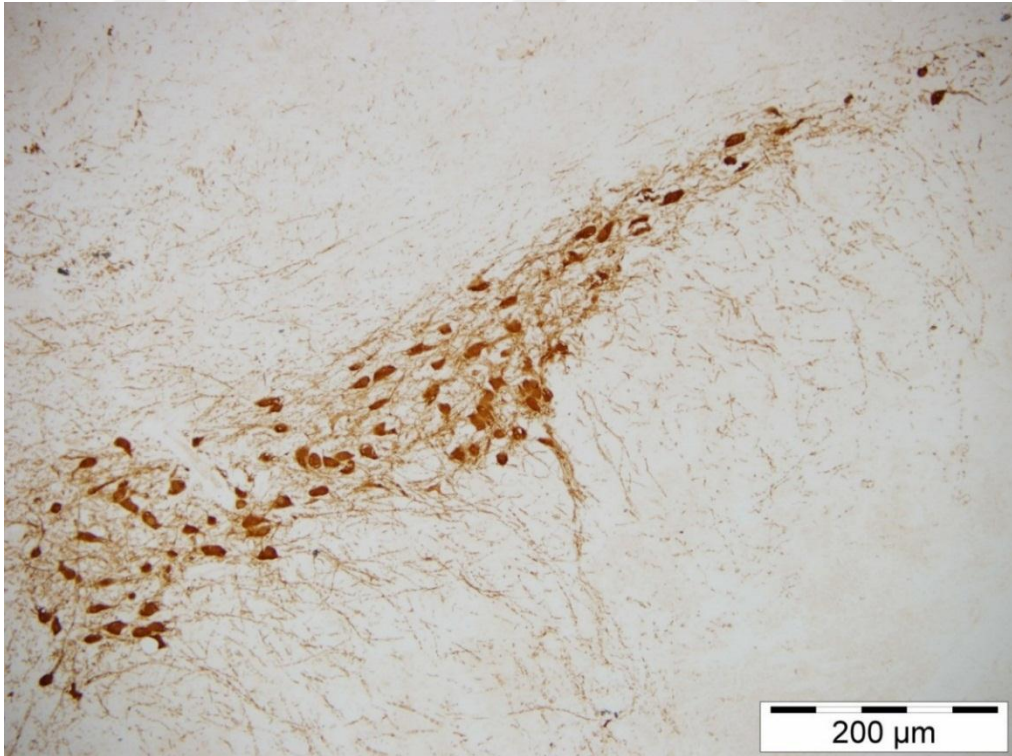
Resim 11a: Kontrol Grubu; Substantia Nigra Bölgesi, İmmunpozitif Hücreler, IHC, Bar= 200 µm.



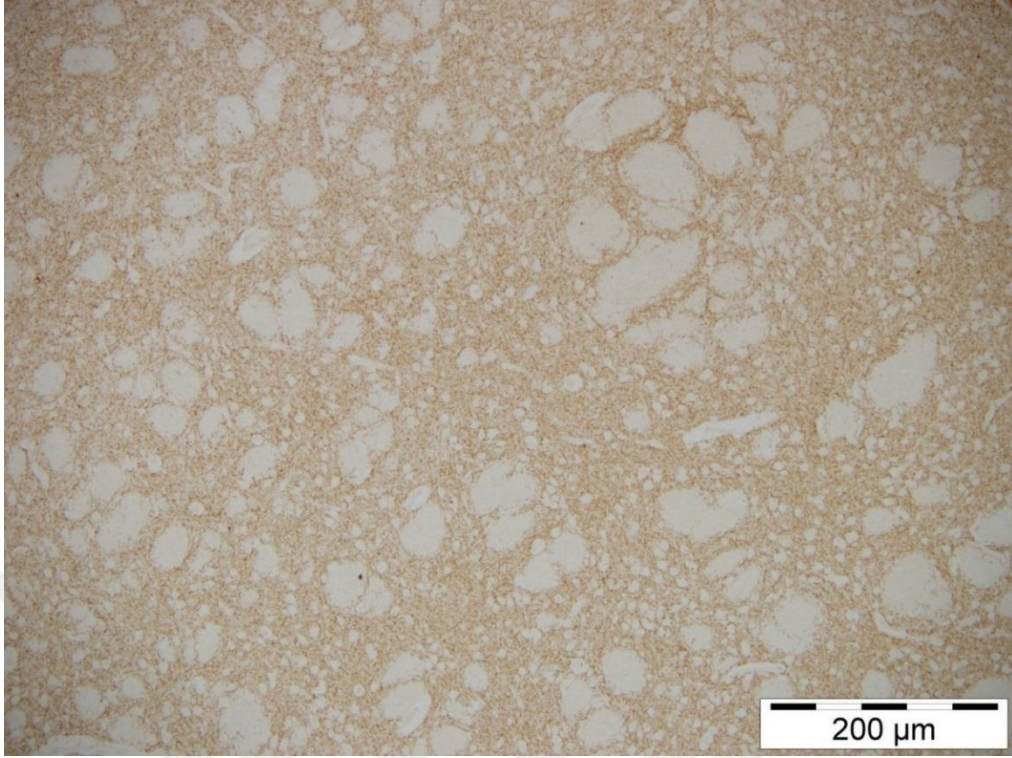
Resim 11b: Ovariohistektomi Grubu; Substantia Nigra Bölgesi, İmmunpozitif Hücre Sayısında Azalma, IHC, Bar= 200 µm.



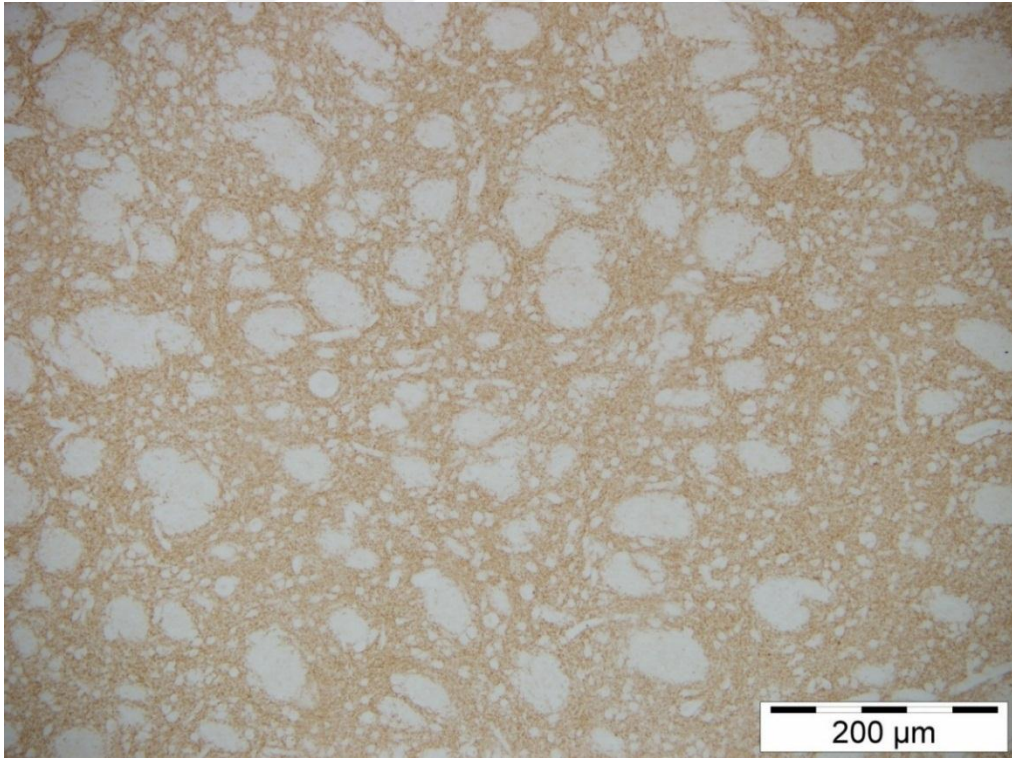
Resim 11c: Parkinson Grubu; Substantia Nigra Bölgesi, İmmunpozitif Hücre Sayısında Kontrol Grubuna Kıyasla Belirgin Azalma, IHC, Bar= 200 μm.



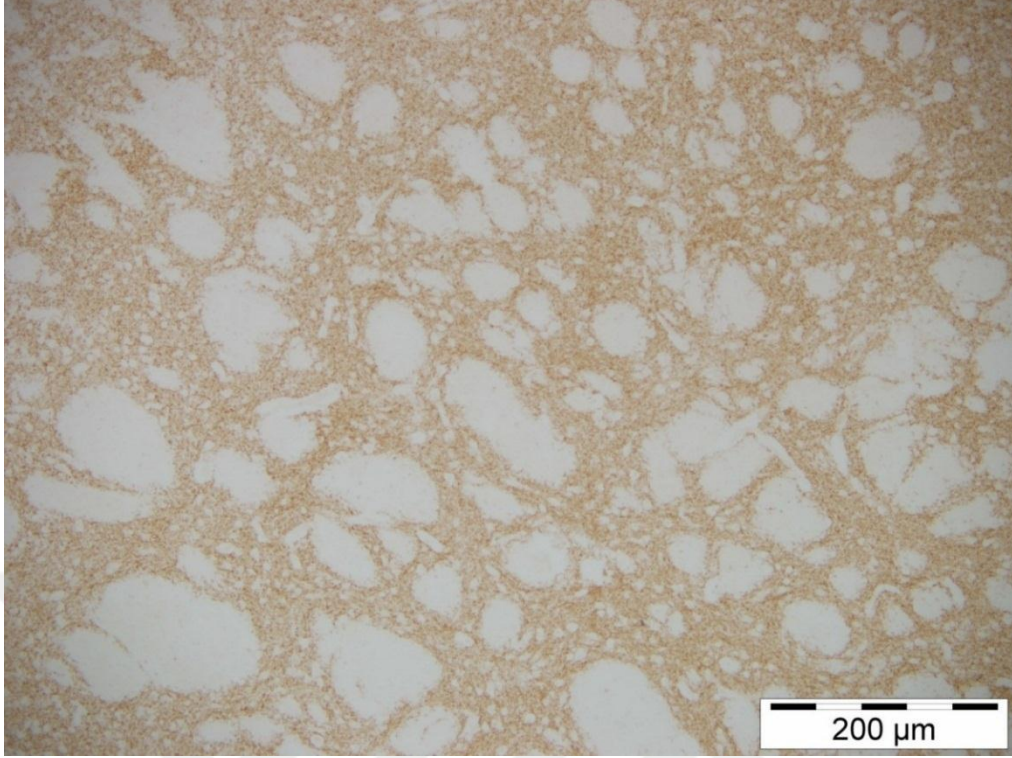
Resim 11d: Parkinson+Östrojen Grubu; Substantia Nigra Bölgesi, Parkinson Grubuna Kıyasla Daha Fazla Sayıda İmmunreaktif Hücre, IHC, Bar= 200 μm.



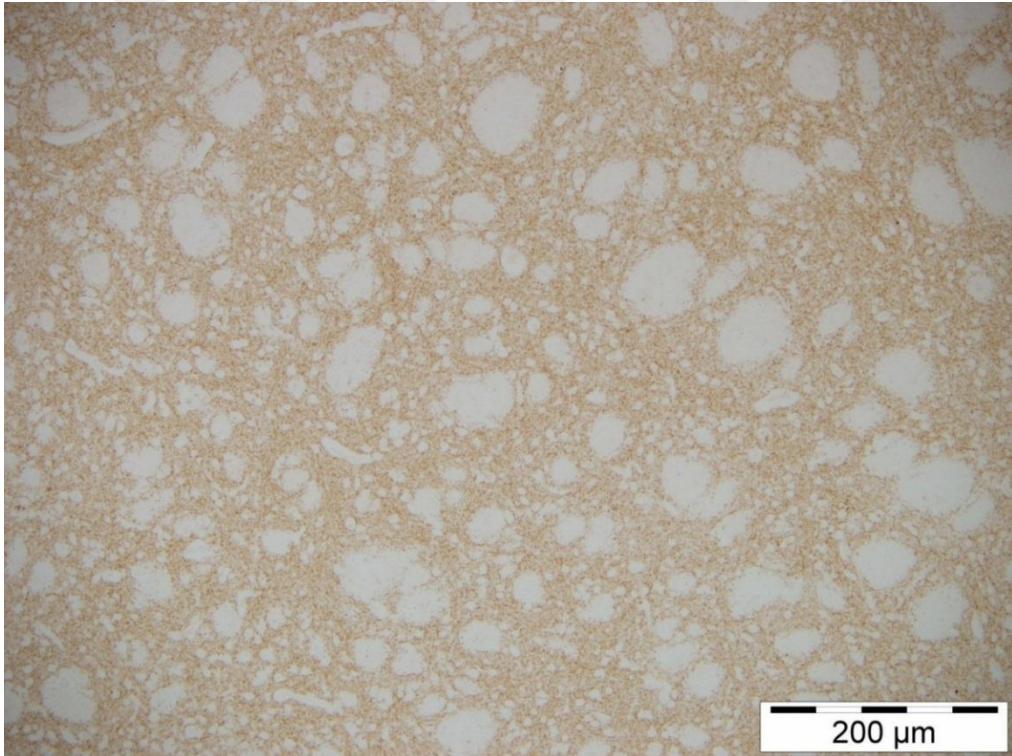
Resim 12a: Kontrol Grubu, Striatum Bölgesi, Nöronal Fibrillerde İmmunpozitif Reaksiyon, IHC, Bar= 200 µm.



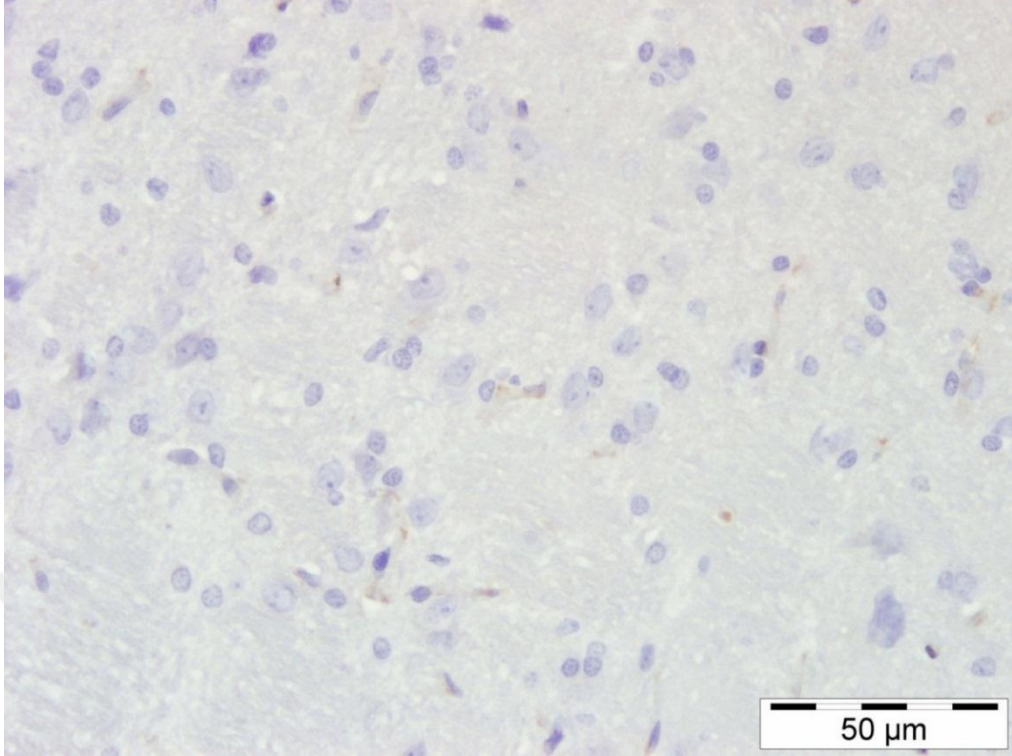
Resim 12b: Overektomii Grubu, Striatum Bölgesi, Nöronal Fibrillerde İmmunpozitif Reaksiyon, IHC, Bar= 200 µm.



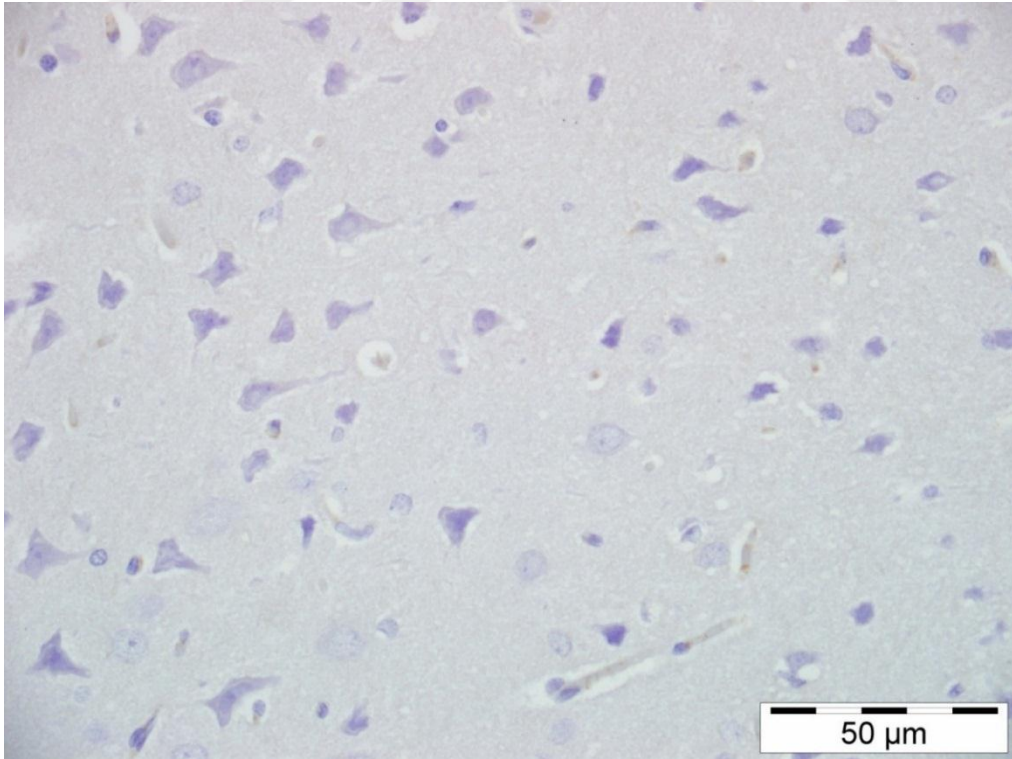
Resim 12c: Parkinson Grubu, Striatum Bölgesi, Nöronal Fibrillerde İmmunpozitif Reaksiyon, IHC, Bar= 200 µm.



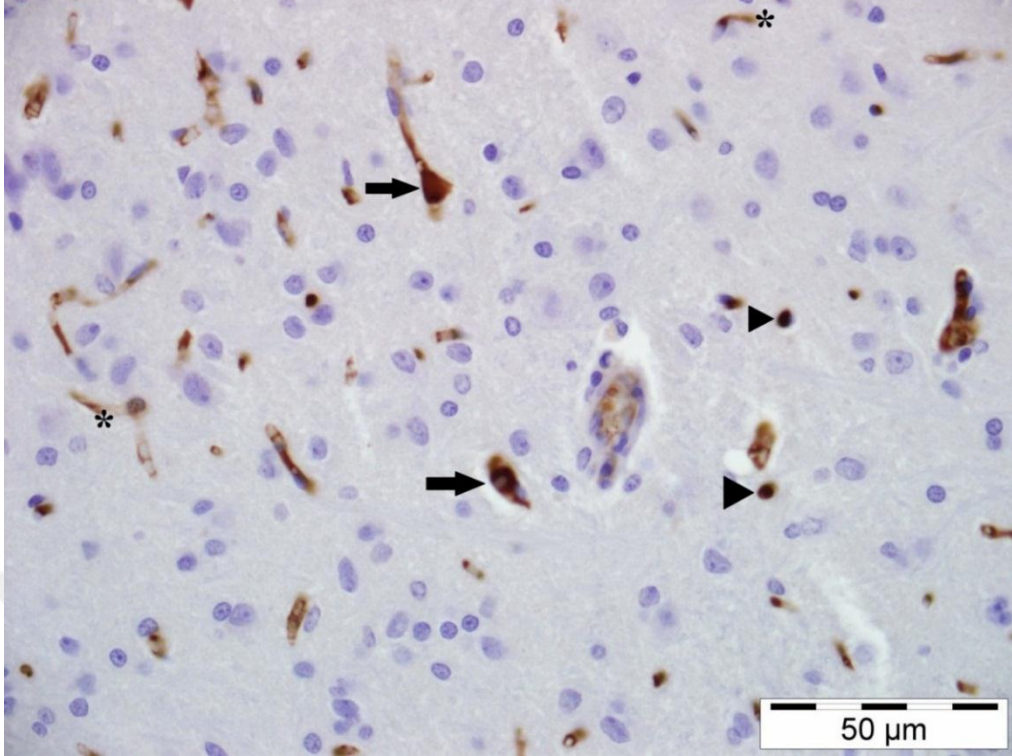
Resim 12d: Parkinson+Östrojen Grubu, Striatum Bölgesi, Nöronal Fibrillerde İmmunoreaktivite, IHC, Bar= 200 µm.



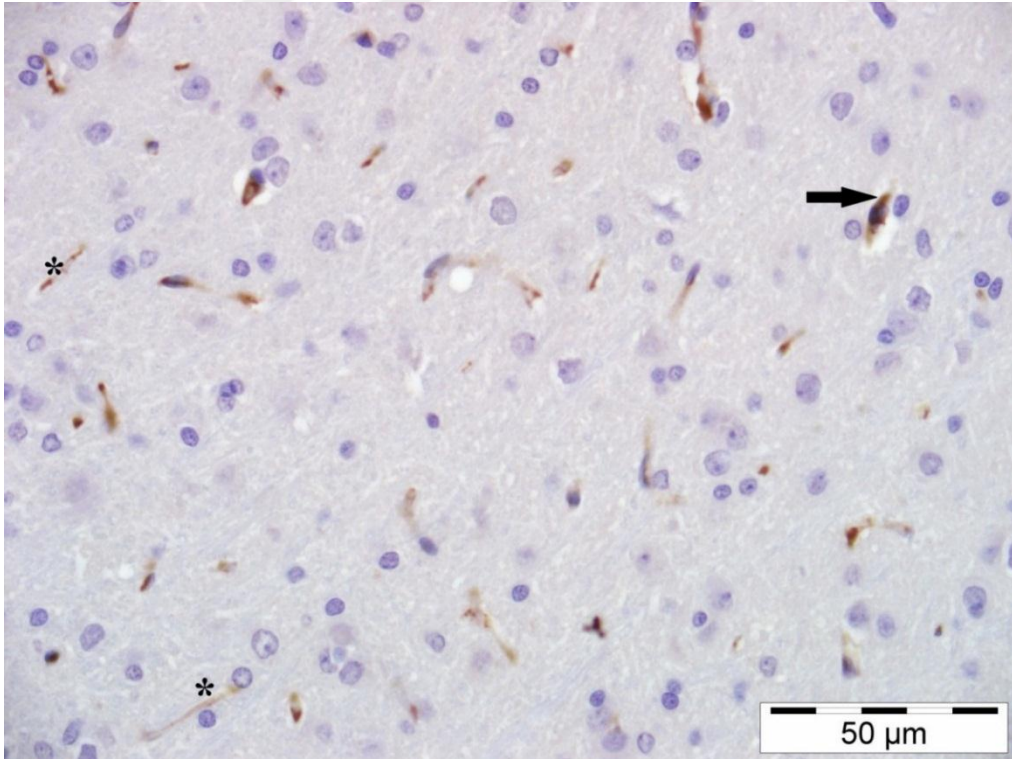
Resim 13a: Kontrol Grubu; Beyin Dokusu, Caspase 3 İmmun Pozitif Boyanma Gözlenmemektedir, IHC, Bar= 50 µm.



Resim 13b: Overektomii Grubu; Beyin Dokusu, Caspase 3 İmmun Pozitif Boyanma Gözlenmemektedir, IHC, Bar= 50 µm.



Resim 13c: Parkinson Grubu; Beyin Dokusu, Nöron (ok), Nöroglial Hücreler (ok başı) ve Nöroglial Fibrillerde (yıldız) Caspase 3 Pozitif Boyanma, IHC, Bar= 50 µm.



Resim 13d: Parkinson+Östrojen Grubu; Beyin Dokusu, Nöron (ok) ve Nöroglial Uzantılarda (yıldız) Düşük Yoğunluklu Caspase 3 Pozitif Boyanma, IHC, Bar= 50 µm.

4. TARTIŞMA

Parkinson hastalığı, dünyada en sık görülen nörodejeneratif hastalıklardan birisidir. Dünya nüfusuna göre ortaya çıkma olasılığı 1/1000'dir. Avrupa'nın en kalabalık 5 ve dünyanın en kalabalık 10 ülkesinde 50 yaş üstündeki popülasyonda yapılan araştırmalar 2005 yılı itibariyle dünyada 4.1-4.6 milyon Parkinson hastası olduğunu, bu sayının 2030 yılında 8.7-9.3 milyon hastaya ulaşacağını göstermektedir. Gün geçtikçe insidansı artan bu hastalığın Avrupa ülkelerinde prevalansı yaklaşık 108-257/100.000 (von Campenhausen ve ark. 2005) ve Türkiye'de ise prevalans oranı 202/100.000 (Durmuş ve ark. 2015) olarak bildirilmektedir. Prevelans ve insidans oranları sadece 60 yaş üstü grubunda değerlendirildiğinde ise sonuçların oldukça yükseldiği görülmektedir (Baldereschi ve ark. 2000).

Parkinson hastalığı, striatumda ve substansia nigra dopaminerjik nöronların dejenerasyonu ve striatumda dopamin kaybı (DA) ile seyreden, ilerleyen tremor, rijidite, bradikinezi ve postural instabiliteye yol açan yaygın bir nörodejeneratif bozukluktur (Zhang ve ark. 2017).

Hayvanlarda Parkinson hastalığı rastlanmasa da, son 30 yılda hastalıkların biyolojik temelini araştırmak ve yeni tedaviler geliştirmek için hayvan modelleri kullanılmıştır. En sık kullanılan Parkinson hastalığı modelleri, hayvanlarda DA-hücrelerini dejenere etmek için 6-OHDA, MPTP, Rotenon, Parakuat, Manabe ve Metamfetamin gibi nörotoksik ajanlar kullanılmaktadır (Lindvall ve ark. 2004, Pignatelli ve ark. 2005, Chen ve ark. 2007).

Nörotoksik ajanlardan olan Rotenonun, mitokondriyal kompleks-1' i inhibe ederek, dopaminerjik nöronların yok edilmesi ile Parkinson hastalığına neden olduğu bilinmektedir. Dopaminerjik nöronların apoptotik yolla yok edildiğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Rotenonun mitokondri içinde etkin olması (Samantaray ve ark. 2007, Zhang ve ark. 2017) ve apoptozon intrinsik mekanizmasının mitokondri yolu (Green ve Reed 1998) olarak bilinmesinden dolayı rotenonun apoptozon intrinsik mekanizmaları ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir.

Yapılan literatür çalışmaları sonucunda, çalışmamızda rotenon ile oluşturulmuş Parkinson hastalığı modelinde östrojenin etkisini araştırdık. Bu anlamda çalışmada apoptoz parametreleri başta olmak üzere histopatolojik, immünohistokimyasal ve fiziksel (motor aktivite) parametreleri de değerlendirilerek östrojenin Parkinson hastalığına etkisi üzerine bilgiler elde edildi.

Nakaso ve ark. (2016) yapmış oldukları çalışmada hem erkek hem de dişi farelerde MPTP ile Parkinson hastalığı modeli oluşturarak E vitamini ailesine bağlı olan tocotrienolün ER üzerinden etkisini araştırmışlardır. Bu anlamda western blot yöntemi ile ER ve TH parametrelerini değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak beyinde, ER α ifadesi özellikle serebellumda gözlemlenmiştir. Serebral korteks, striatum ve substantia nigra'daki ER α ekspresyonunu ise serebellum ampuldekinden daha düşük oranda tespit etmişlerdir. Fakat ER β 'nin ekspresyonu ise substantia nigra ve beyincik gibi TH bakımından zengin bölgelerde gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Ayrıca erkek ve dişi fareler arasında beyin ER'lerinin ifadesi açısından belirgin bir fark olmadığını tespit etmişlerdir. Verilen tocotrienolün etkisinin ER β üzerinden meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bu amaçla çalışmada immünohistokimyal boyamada TH pozitif dopaminerjik nöronları ve rotarod testi ile de motor aktiviteyi test etmişlerdir. Sonuçlarına göre Parkinson grubuna göre tedavi grubunda TH boyanan hücre sayısında belirgin artma gözlemlenmişler ve 40 rpm ile yapmış oldukları rotarod testinde tedavi grubunda düşme zamanı süresinde artma gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise bahsi geçen çalışmayla benzer şekilde östrojenle tedavi grubunun Parkinson grubundan TH boyanan hücre sayısının oldukça yüksek, rotarod düşme zamanının ise istatistiksel anlamda yüksek olduğu tespit edildi.

Özsoy ve ark. (2011) MPTP ile oluşturdukları Parkinson hastalığı modelinde dokosaheksaenoik asitin etkisini araştırmışlar ve Parkinson hastalığı üzerine etkisini önemli derecede anlamlı bulduklarını bildirmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada pole testi ile bradikineziyi belirlemişler ve bu pole testinde MPTP verilen grubun kontrol grubuna göre çubukta hem dönüş zamanında hem de aşağı iniş zamanında daha uzun sürede tamamladıklarını bildirmişlerdir ($p<0,05$). Yapmış olduğumuz çalışmada ise pole testi ile bradikinezi belirlenmiş ve Özsoy ve ark. (2011) yapmış oldukları

çalışmaya benzer şekilde dönüş ve iniş sürelerinde önemli fark tespit edilmiştir. Ayrıca Parkinson grubunun diğer gruplara göre sıçanların çubuktan inişi gözlemlendiğinde hareketsel bozukluklar da tespit edilmiştir.

Özsoy ve ark. (2011) tirozin hidroksilaz (TH) ile pozitif dopaminerjik nöronları belirlemişler ve MPTP grubu ile diğer gruplar arasında fark gözlemlediklerini belirtmişlerdir. Yine benzer şekilde lee ve ark. (2012) yapmış oldukları çalışmada da MPTP modeli oluşturarak TH immünohistokimyasal verilerine göre MPTP grubu ile kontrol grubu arasında önemli fark gördüklerini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise 6-OHDA'nın sterotaksi ile SN⁺ ya yapmış oldukları infüzyon ile Parkinson hastalığı oluşturmuşlardır. Oluşturdukları modelde asetilsalisilik asit ile meloksikamın Parkinson hastalığı üzerine etkisini araştırmışlardır. Bu anlamda yapmış oldukları immünohistokimyasal boyamada TH pozitif dopaminerjik nöronları tespit etmeye çalışmışlar ve sonuç olarak 6-OHDA grubu ile diğer gruplar arasında boyanmış hücre sayılarında mikroskopik olarak fark bulmuşlardır (Gören ve ark. 2009). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde TH ile pozitif dopaminerjik nöronlar belirlenmiş ve Rotenon grubu ile diğer gruplar arasında fark olduğu ve bununda immünohistokimyasal boyamada TH pozitif dopaminerjik nöronların Parkinson hastalığı için önemli bir parametre olduğu yukarıda belirtilen çalışmalar ile de desteklenmektedir. Ayrıca çalışmamızda TH pozitif dopaminerjik nöronların östrojen uygulanan grup ile rotenon uygulanan grup arasında fark olması çalışmamız açısından oldukça önemli bir sonuçtur.

Yaptığımız çalışmada Kaspaz-3 aktivitesi hem immünohistokimyasal hemde ELİSA yöntemi ile doku homejenatlarında değerlendirildi. Bu anlamda Parkinson grubu ile Parkinson+östrojen grubu ve Kontrol grubu arasında oldukça önemli farklar bulundu. Samantaray ve ark. (2007) yapmış oldukları çalışmada 2,5 mg/kg dozunda rotenon uygulayarak Parkinson modeli oluşturmuşlardır. Yapmış oldukları çalışmada kalpain ve kaspaz-3 aktivitesini immünohistokimyasal olarak değerlendirmişler ve rotenon uygulanan gruplarda kaspaz-3 aktitesine rastlarken kontrol grubunda hiçbir aktivite bulamadıklarını bildirmişlerdir. Bu bağlamda çalışma bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Kim ve ark. (2014) yapmış olduğu bir çalışmada MPTP ile Parkinson hastalığı modeli oluşturarak BCL-2, immünohistokimyasal olarak kaspaz-3 ve TH düzeylerini belirlemiştir. Buldukları verilere bakıldığında Bcl-2'nin MPTP modelinde azaldığı, kaspaz-3 aktivitesinin ve TH pozitif boyanan nöronların arttığını tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamız sonunda immünohistokimyasal olarak elde edilen kaspaz-3 ve TH sonuçlarının bu çalışma ile benzer olduğu görülmektedir. ELİSA sonuçlarımıza baktığımızda ise Parkinson grubu ile kontrol grubu değerlendirildiğinde kaspaz-3 ile Bcl-2 sonuçlarımız yukardaki çalışmayla uyum içerisinde.

Von Wrangel ve ark. (2015) yapmış oldukları çalışmada rotenon ile oluşturdukları Parkinson hastalığı modelinde motor aktivite testi ile aradaki farkı araştırmışlardır. Bu amaçla rotarod testinden yararlanarak testteki dakikada dönüş hızını 15 Rpm olarak belirlemiştir. Yapmış oldukları testte kontrol grubunun Parkinson grubuna göre koşu çarkında daha fazla koştuğunu tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Campos ve ark. (2013) 6-OHDA ile Parkinson hastalığı modeli oluşturduklarını bildirerek, çalışmada rotarod testi ile motor aktivite verilerini değerlendirip sonuç olarak Parkinson grubu ile diğer gruplar arasında oldukça önemli istatistiksel fark tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışma da ise diğer çalışmalar ile benzer olarak Parkinson grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir ($p<0,05$). Fakat yapmış olduğumuz çalışmada dönüş hızı 30 Rpm olarak belirlenmiştir.

Rodriguez-Perez ve ark. (2013) ovariectomi uygulanmış sıçanlarda MPTP ile oluşturdukları Parkinson hastalığı modelinde östrojenin Rho kinaz aktivitesi üzerine etkisini araştırarak immünohistokimyasal olarak TH pozitif dopaminerjik nöronların tespitini yapmışlar ve Parkinson grubu ile diğer gruplar arasında önemli bir fark tespit etmişlerdir. Ayrıca rotarod testi uygulayarak motor aktiviteyi ortaya koymaya çalışmışlardır. Bildirmiş oldukları sonuçlarda ise Parkinson grubunda diğer gruplara oranla rotarod testinde düşme zamanının azaldığını tespit etmişlerdir. Özellikle östrojen tedavi grubu ile Parkinson grubu arasında tespit ettikleri fark önem arz etmektedir ($p<0,05$). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise ovariectomi yapılmış sıçanlarda rotenon ile Parkinson hastalığı modeli oluşturarak östrojenin etkisi araştırıldı. Çalışma sonuçlarına bakıldığında hem TH pozitif dopaminerjik nöronlar

hem de rotarod testi yönünden Rodriguaz-Perez ve ark. (2013)'nın yapmış olduğu çalışma ile benzer istatistiksel sonuçlar elde edildi. Aynı şekilde çalışmamızdaki östrojen grubunun Parkinson grubu ile fark göstermesi tedavi de östrojenin önem arz ettiğini düşündürmektedir.

Campos ve ark. (2013) yapmış oldukları çalışmada hem Paraquat ile hemde 6-OHDA ile Parkinson hastalığı modeli oluşturmuşlar ve yüzdürme testi uygulayarak yüzdürme havuzunda bulunan platformu bulma sürelerine bakarak hayvanların bellek ve öğrenme becerilerini test etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada paraquat uygulanan grup ile kontrol grubu arasında herhangi bir istatistiksel fark bulamamış iken 6-OHDA uyguladıkları grup ile kontrol grubu arasında önemli bir fark tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise yüzdürme testinde benzer şekilde rotenon uyguladığımız grubun kontrol ve diğer gruplara özellikle östrojen tedavi grubuna göre istatistiksel fark tespit edildi.

Di ve ark. (2012) yapmış oldukları çalışmada farelere nikotin uygulaması yaparak fare beyinlerindeki dopamin seviyelerini immünohistokimyasal olarak TH seviyelerine bakarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada nikotin verilen grubun TH boyanan hücre sayısı kontrol grubuna göre arttığını tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada ise yapılan çalışmaya benzer şekilde östrojen verdiğimiz grubun Parkinson grubuna göre TH boyanan hücre sayısında artış gösterdiği tespit edildi.

Nordström ve ark. (2015) yapmış oldukları çalışmada ise Parkinson modeli oluşturmak yerine TH-GFP mutant fareler yani genetik olarak Parkinson hastalığına yatkın fareler kullanmışlardır. Böylece hastalığın oluşum mekanizması üzerine herhangi bir açık bırakmamışlardır. Öyleyken yapmış oldukları çalışmada immünohistokimyasal olarak TH seviyelerini araştırmış ve mutant fareler ile kontrol fareleri arasında dopaminerjik nöronların kaybolmasında istatistiksel fark bulmuşlardır. Keza bizim çalışmamızda da benzer şekilde TH boyanan dopaminerjik nöronların Parkinson modelinde oldukça azalma olduğu tespit edildi. Böylece oluşturulan rotenon modelinin neredeyse mutant modeller ile benzerlik gösterdiği ve güvenilirliği tespit edilmiştir.

Parkinson hastalığının patogeneğinde başta apoptozis olmak üzere birçok hücre ölümü yer almaktadır. Apoptoz mekanizmalarından hem intrinsik hemde ekstrinsik yolun dopaminerjik nöronların ölümünde etkin olduğu bilinmektedir. Özellikle mitokondri kompleks-1 inhibisyonu ile meydana gelen modellerde intrinsik yolun yani mitokondriyal yolun öneminin büyük olduğu bilinmekle beraber ekstrinsik yolunda bu intrinsik yol üzerinde etkin olabileceği bildirilmektedir (Da Costa ve Checler 2011). Yapılan bir çalışmada rotenon ile oluşturulan Parkinson hastalığı modelinde apoptotik mekanizma üzerine bazı parametreler incelenmiş, immünohistokimyasal olarak TH seviyesine bakılmış ve oluşturulan modelde kontrol grubuna göre fark tespit edilmiştir. Yapmış oldukları analizler sonucunda Bcl-2'nin Parkinson grubunda kontrol grubuna göre oldukça düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca Kaspaz-3 sonuçlarında ise kontrol grubu ile rotenon verilen grup arasında herhangi bir farklılık bulamamışlardır (Haytural ve Tüzün 2014). Çalışmamızda ise apoptozis yönünden rotenon grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında Bcl-2' nin yukarıdaki çalışmayla uyum içerisinde olduğu, fakat Kaspaz-3 parametrelerinin benzerlik göstermediği tespit edildi. Fakat tedavi grubu olan östrojen grubu ile Parkinson grubu karşılaştırıldığında ise Bcl-2'nin SN'da istatistiksel olarak östrojen grubunda artma gözlenmesine rağmen STR'de istatistiksel olarak artma tespit edilmedi. Diğer bir parametre olan Kaspaz-3 ise östrojen grubunun Parkinson grubuna göre hem STR'de hemde SN'de istatistiksel anlamda bir azalma tespit edildi. Rotenonun etkisi ile mitokondriyal kompleks-1 inhibe edilerek spesifik dopaminerjik nöronların kaybı düşünülecek olursa apoptozisin mitokondriyal yolu olan intrinsik mekanizmanın SN'daki Bcl-2 verileri nöron kaybını desteklemektedir. Dopaminlerin yapıldığı son aşama beyinin bir bölümü olan STR ve apoptozisin son basamağı Kaspaz-3 olduğu bilinmektedir. STR'deki Kaspaz-3 verilerinde tespit edilen istatistiksel fark mevcut çalışmayı destekler niteliktedir. Aynı zamanda çalışmamızda immünohistokimyasal olarak Kaspaz-3 boyanarak Parkinson grubunda boyanan hücreler gözlemlendi. Bu sonuç aynı zamanda Samantaray ve ark. (2007) yapmış olduğu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Zhang ve ark. (2017) yapmış oldukları çalışmada subkutan uygulama ile rotenon doz denemesi yapmışlardır. Çalışmada kontrol grubunda bulunan sıçanlara herhangi bir uygulama yapılmazken diğer gruplara subkutan 1,5 mg/kg, 2 mg/kg ve 2,5 mg/kg rotenon uygulanmıştır. Çalışma sonunda 2 mg/kg ve 2,5 mg/kg rotenon uygulanan

gruaplarda hem SN'deki dopaminerjik TH immünreaktif nöronlarda hem de STR'deki dopaminlerde azalma tespit etmişlerdir. Ayrıca yapılan rotarod testinde ise rotenon uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak azalma gördüklerini bildirmişlerdir. 2 mg/kg ile 2,5 mg/kg rotenon uygulanan gruplar arasında düşme zamanında istatistiksel fark oluşmadığını bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada rotenon dozu 2,5 mg/kg olarak belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar, Zhang ve ark. (2017)'nin yapmış oldukları çalışmayla benzerlik göstermektedir.



5. SONUÇ

Rotenon ile Parkinson modeli oluşturulan Wistar Albino cinsi dişi sıçanlarda uygulamış olduğumuz östrojenin Parkinson hastalığında oldukça sık görülen motor aktiviteler ve apoptozis üzerine önemli bir etkisi olduğunu belirledik.

Östrojen uygulanmasının parkinson hastalığında kaybolan substansia nigra'daki dopaminerjik nöronlar üzerinde koruyucu etkisi olduğu yapılan tirozin hidroksilaz immünohistokimyasal boyama ile tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra striatum'daki dopaminlerin Parkinson hastalığında azalmasının yine aynı şekilde östrojen uygulaması ile belirgin şekilde baskılandığını immünohistokimyasal boyamayla belirledik.

Parkinson hastalarında meydana gelen bradiziki, pole testi ile test edilerek östrojen uygulanan grupta hareket bozukluğunun görülmediğini tespit ettik.

Öğrenme ve bellek bozukluğu üzerine yapmış olduğumuz yüzdürme testi ile östrojen uyguladığımız Parkinson modeli sıçanlarda platformu bulma sürelerinde azalma tespit ederek öğrenme ve bellek üzerine östrojenin koruyucu etkisinin varlığını tespit ettik.

Parkinson hastalığında ortaya çıkan lokomotor ve motor aktivite bozukluğunu, yapmış olduğumuz rotarod testi ile östrojen uygulaması yapılan Parkinson modeli grubun düşme zamanında artış tespit ederek östrojenin motor aktivite bozukluğu üzerine olumlu etkisini tespit ettik.

Çalışmamızda, östrojenin Parkinson hastalığının hücre ölümü üzerindeki koruyucu etkisini saptamak için yapmış olduğumuz kimyasal ve patolojik değerlendirmeler ile östrojenin hücre ölümü üzerine koruyucu etkisinin varlığını tespit ettik. Özellikle rotenonun meydana getirmiş olduğu mitotondiyal kompleks1 üzerinden yola çıkarak apoptozun intrinsik yolağı olan mitokonriyal yolak üzerinde durduk. Bu bağlamda intrinsik yolak olan Bcl-2 ile apoptozun son basamağı olan Kaspaz-3 parametreleri üzerine yoğunlaşarak önemli sonuçlar elde ettik. Böylece SN da BCl-2 aktivesin östrojen uygulaması ile arttığını belirledik. Fakat STR'de Bcl-2

aktivasyonunda istatistiksel olarak herhangi bir artma gözlemlenmedi. Bununla beraber apoptozisin son basamağı olan Kaspaz-3 aktivitesinin östrojen uygulaması hem STR’de hemde, SN’da ise istatistiksel anlamda bir azalma gözlemlendi.

Bu veriler ışığında östrojenin, deneysel Parkinson modelinde, hastalığın seyri ve semptomları üzerinde oldukça önemli düzenleyici ve olumlu etkilere sahip olduğu düşüncesindeyiz. Fakat bu konuda yapılan çalışmaların yetersiz olması ve özellikle de östrojenin Parkinson üzerine etkisinde apoptoz mekanizmalarının tam anlamıyla aydınlatılamamış olması nedeniyle, çalışmamızın daha sonraki çalışmalara hem bilimsel anlamda hem de literatür anlamında ciddi destek sağlayacağı kanaatindeyiz.



KAYNAKLAR

Aarsland D, Zaccari J, Brayne C: A systematic review of prevalence studies of dementia in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 20: 1255–1263, 2005.

Adrain C, Creagh EM, Martin SJ: Apoptosis-associated release of Smac/DIABLO from mitochondria requires active caspases and is blocked by Bcl-2. *EMBO J*, 20(23): 6627-6636, 2001.

Adwanikar H, Noble-Haeusslein L, Levin HS: Traumatic brain injury in animal models and humans. *NeuroMethods* 50. In: Raber, J. (Ed.), *Animal Models of Behavioral Analysis*. Springer Science + Business Media, pp. 237–266, 2011.

Agid Y: Parkinson's disease: Pathophysiology. *Lancet*, 337: 1321–1324, 1991.

Alam M, Schmidt WJ: Rotenone destroys dopaminergic neurons and induces parkinsonian symptoms in rats. *Behav. Brain Res*, 136, 317–24, 2002.

Altunkaynak BZ, Ünal D, Aksak S, Ünal B: Östrojen hormonu ve menopoz. *Deneysel ve Klinik Tıp Dergisi - Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 29: 252-256, 2012.

Anonim 1: (<http://www.commat.com.tr/newsletters/NL10/NL10.htm>. Erişim Tarihi: 08.06.2018.

Anonim 2: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Rotenone_Structural_Formula_V.1.svg. Erişim Tarihi: 08.06.2018.

Anonim 3 : <https://www.biooncology.com/pathways/cancer-tumor-targets/bcl-2/bcl-2-family-proteins>. Erişim Tarihi: 12.06.2018.

Anonim 4: <https://www.istockphoto.com/tr/vekt%C3%B6r/steroid-%C3%B6strojen-kimyasal-form%C3%BCller-estradiol-estriol-estrone-gm866317328-143971243>. Erişim Tarihi: 08.06.2018.

Anonim 5: <http://play.psych.mun.ca/~smilway/landmarks.html>. Erişim Tarihi: 10.06.2018.

Araujo NP, Abílio VC, Silva RH, Pereira RC, Carvalho RC, Gonzalez C, Bellot RG, Castro JPMV, Fukushiro DF, Rodrigues MSD, Chinen CC, Frussa-Filho R: Effects of topiramate on oral dyskinesia induced by reserpine. *Brain Res Bull*, 64: 331-7, 2004.

Arur S,Uche UE, Rezaul K, Fong M, Scranton V, Cowan AE, Mohler W, Han DK: "Annexin I is an endogenous ligand that mediates apoptotic cell engulfment." *Dev Cell*, 4(4): 587-598, 2003.

Ashkenazi A, Dixit VM: Death receptors: Signaling and modulation. *Science*, 281(5381): 1305-1308. 1998.

Ashkenazi A: Targeting death and decoy receptors of the tumour-necrosis factor superfamily. *Nat Rev Cancer*, 2(6): 420-430, 2002.

Baehrecke EH: Autophagy: dual roles in life and death? *Nat Rev Mol Cell Biol*, 6(6): 505-510, 2005.

Baldereschi M, Di Carlo A, Rocca WA, Vanni P, Maggi S, Perissinotto E, Grigoletto F, Amaducci L, Inzitari D: Parkinson's disease and parkinsonism in a longitudinal study: Two-fold higher incidence in men. ILSA Working Group. Italian longitudinal study on aging, *Neurology*, 55: 1358–1363, 2000.

Beal MF: Experimental models of Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci*, 2: 325–334, 2001.

Becker JB, Beer ME: The influence of estrogen on nigrostriatal dopamine activity: behavioral and neurochemical evidence for both pre- and postsynaptic components. *Behav Brain Res*, 19: 27–33, 1986.

Becker JB: Direct effect of 17 β -estradiol on striatum: Sex differences in dopamine release. *Synapse*, 3: 137–64, 1990.

Becker JB: Estrogen rapidly potentiates amphetamine-induced striatal dopamine release and rotational behavior during microdialysis. *Neurosci Lett*, 118: 169–71, 1990

Behari M, Srivastava AK, Pandey RM: Quality of life in patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*, 11: 221–226, 2005.

Benedetti MD, Maraganore DM, Bower JH, McDonnell SK, Peterson BJ, Ahlskog JE, Schaid DJ, Rocca WA: Hysterectomy, menopause, and estrogen use preceding Parkinson's disease: An exploratory case-control study. *Mov Disord*, 16: 830–837, 2001.

Betarbet R, Canet-Aviles RM, Sherer TB, Mastroberardino PG, McLendon C, Kim JH, Lund S, Na HM, Taylor G, Bence NF, Kopito R, Seo BB, Yagi T, Yagi A, Klinefelter G, Cookson MR, Greenamyre JT: Intersecting pathways to neurodegeneration in Parkinson's disease: Effects of the pesticide rotenone on DJ-1, alpha-synuclein, and the ubiquitin-proteasome system. *Neurobiol Dis*, 22: 404–420, 2006.

Betarbet R, Sherer TB, MacKenzie G, Garcia-Osuna M, Panov a V, Greenamyre JT: Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci*, 3: 1301–1306, 2000.

Bezard E, Imbert C, Gross CE: Experimental models of Parkinson's disease: from the static to the dynamic. *Rev Neurosci*, 9(2): 71-90, 1998.

Blanchet PJ, Fang J, Hyland K, Arnold LA, Mouradian MM, Chase TN: Short-term effects of high-dose 17beta-estradiol in postmenopausal PD patients: a crossover study. *Neurology*, 53: 91–95, 1999.

Blandini F, Armentero M Animal models of Parkinson's disease. *FEBS J*, 279: 1156–1166, 2012.

Bodmer JL, Burns K, Schneider P, Hofmann K, Steiner V, Thome M, Bornand T, Hahne M, Schröter M, Becker K, Wilson A, French LE, Browning JL, MacDonald HR, Tschoop J: TRAMP, a novel apoptosis-mediating receptor with sequence homology to tumor necrosis factor receptor 1 and Fas(Apo-1/CD95). *Immunity*, 6(1): 79-88, 1997.

Bohlen M, Cameron A, Metten P, Crabbe JC, Wahlsten D: Calibration of rotational acceleration for the rotarod test of rodent motor coordination. *Journal of neuroscience methods*, 178(1): 10-14, 2009.

Boissier J, Tardy J, Diverres J: Une nouvelle méthode simple pour explorer l'action "tranquillisante": le test de la cheminée. *Med. Exp*, 3: 81–84, 1960.

Boldin MP, Mett IL, Varfolomeev EE, Chumakov I, Shemer-Avni Y, Camonis JH, Wallach D: Self-association of the "death domains" of the p55 tumor necrosis factor (TNF) receptor and Fas/APO1 prompts signaling for TNF and Fas/APO1 effects. *J Biol Chem*, 270(1): 387-391, 1995.

Borse LB, Muthu AK, Thangatripathi A, Borse SL: CNS activity of the methanol extracts of heartwood of *Tecoma stans* in experimental animal model. *Pharmacologyonline*, 3: 745–754, 2011.

Boulware MI, Mermelstein PG: Membrane estrogen receptors activate metabotropic glutamate receptors to influence nervous system physiology. *Steroids*, 74: 608-613, 2009.

Bové J, Perier C: Neurotoxin-based models of Parkinson's disease. *Neuroscience*, 211: 51–76, 2012.

Brandt-Christensen M, Kvist K, Nilsson FM, Andersen PK, Kessing LV: Treatment with antiparkinson and antidepressant drugs: a register-based, pharmaco-epidemiological study. *Movement Disorder*, 22: 2037–2042, 2007.

Bratton D. L, Fadok VA, Richter DA, Kailey JM, Guthrie LA, Henson PM: Appearance of phosphatidylserine on apoptotic cells requires calcium-mediated nonspecific flip-flop and is enhanced by loss of the aminophospholipid translocase. *J Biol Chem*, 272(42): 26159–26165, 1997.

Brill, A, Torchinsky A, Carp H, Toder V: The role of apoptosis in normal and abnormal embryonic development. *J Assist Reprod Genet*, 16(10): 512–519, 1999.

Brooks SP, Dunnett SB: Tests to assess motor phenotype in mice: a user's guide. *Nat. Rev. Neurosci*, 10: 519–529, 2009.

Campos FL, Carvalho MM, Cristovão AC, Je G, Baltazar G, Salgado AJ, Kim Y, Sousa N: Rodent models of Parkinson's disease: beyond the motor symptomatology. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 7: 175, 2013.

Cannon JR, Tapias V, Na HM, Honick AS, Drolet RE, Greenamyre JT: A highly reproducible rotenone model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*, 34: 279–290, 2009.

Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T: 3,4-ihydroxyphenylalanine and 5- hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature*, 180(4596): 1200, 1957.

Carlsson H, Winkler C, Burger C, Muzyczka N, Mandel RJ, Cenci A, Björklund A, Kirik D: Reversal of dyskinesias in an animal model of Parkinson's disease by continuous L-DOPA delivery using rAAV vectors. *Brain*, 128: 559–69, 2005.

Carr J, Kies B, Fine J, Movement Disorders Group of South Africa. Guideline for the treatment of Parkinson's disease. *South African Medical Journal*, 99: 755–756, 2009.

Carriere CH, Kang NH, Niles LP: Neuroprotection by valproic acid in an intrastriatal rotenone model of Parkinson's disease. *Neuroscience*, vol. 267: pp. 114–21, 2014.

Centonze D, Gubellini P, Usiello A, Rossi S, Tscherter A, Bracci E, Erbs E, Tognazzi N, Bernardi G, Pisani A, Calabresi P, Borrelli E: Differential contribution of dopamine D2S and D2L receptors in the modulation of glutamate and GABA transmission in the striatum. *Neuroscience*, 129: 157–166, 2004.

Cereda E, Barichella M, Cassani E, Caccialanza R, Pezzoli G: Reproductive factors and clinical features of Parkinson's disease. *Parkinsonism Related Disorders*, 19: 1094–1099, 2013.

Chen XY, Li J, Qi WQ, Shen SH: Experimental change on dopaminergic neurons in striatum of Parkinson disease rats. *Histology and histopathology*, 22(10-12): 1085–1090, 2007.

Cheung E, Schwabish MA, Kraus WL: Chromatin exposes intrinsic differences in the transcriptional activities of estrogen receptors alpha and beta. *E.M.B.O. J*, 22: 600–611, 2003.

Chin-Chan M, Navarro-Yepes J, Quintanilla-Vega B: Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases. *Front Cell Neurosci*, 9: 1–22, 2015.

Chinnaiyan AM, O'Rourke K, Tewari M, Dixit VM: FADD, a novel death domain-containing protein, interacts with the death domain of Fas and initiates apoptosis. *Cell*, 81(4): 505–512, 1995.

Chiueh CC, Markey SP, Burns RS, Johannessen JN, Jacobowitz DM, Kopin IJ: Neurochemical and behavioral effects of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in rat, guinea pig, and monkey. *Psychopharmacol Bull*, 20(3): 548-53, 1984.

Cicchetti F, Brownell AL, Williams K, Chen YI, Livni E, Isacson O: Neuroinflammation of the nigrostriatal pathway during progressive 6-OHDA dopamine degeneration in rats monitored by immunohistochemistry and PET imaging. *Eur J Neurosci*, 15(6): 991-8, 2002.

Cicchetti F, Drouin-Ouellet J, Gross RE: Environmental toxins and Parkinson's disease: what have we learned from pesticide-induced animal models? *Trends Pharmacol Sci*, 30: 475-483, 2009.

Cohen G, Pasik P, Cohen B, Leist A, Mytilineou C, Yahr MD: Pargyline and deprenyl prevent the neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in monkeys. *Eur J Pharmacol*, 106: 209-210, 1984.

Cohen GM: Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J*, 326 (Pt 1): 1-16, 1997.

Cohen JJ, Duke RC, Fadok VA, Sellins KS: Apoptosis and programmed cell death in immunity. *Annu Rev Immunol*, 10: 267-293, 1992.

Cole SA, Woodard JL, Juncos JL, Kogos JL: Depression and disability in Parkinson's disease. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 8: 20-25, 1996.

Cummings DM, Alaghband Y, Hickey MA, Joshi PR, Hong SC, Zhu C, Ando TK, Andre VM, Cepeda C, Watson JB, Levine MS: A critical window of CAG repeat-length correlates with phenotype severity in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *J. Neurophysiol*, 107: 677-691, 2012.

Cummins NW, Badley AD: Mechanisms of HIV-associated lymphocyte apoptosis: 2010. *Cell Death Dis*, 1: e99, 2010.

Da Costa CA, Checler F: Apoptosis in Parkinson's disease: is p53 the missing link between genetic and sporadic Parkinsonism? *Cellular signalling*, 23(6): 963-968, 2011.

Damiano AM, Snyder C, Strausser B, Willian MK: A review of healthrelated quality of life concepts and measures for Parkinson's disease. *Quality of Life Research*, 8: 235-43, 1999.

Datler C: Apoptosis Regulation at Mitochondria: Insights into the Roles of CKMT1 and I κ B α in Apoptosis Inhibition, PhD Thesis, Imperial College London, 2013.

Dauer W, Przedborski S: Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. 39: 889-909, 2003.

Dauge V, Sebret A, Beslot F, Matsui T, Roques BP: Behavioral profile of CCK2 receptor-deficient mice. *Neuropsychopharmacology*, 25: 690-698, 2001.

Davis GC, Williams AC, Markey SP, Ebert MH, Caine ED, Reichert CM, Kopin IJ: Chronic Parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues. 1(3): 249-254 1979.

De Lau LML, Breteler MMB: Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*, 5: 525-535, 2006.

Degtarev A, Boyce M, Yuan J: A decade of caspases. *Oncogene*, 22(53): 8543-8567, 2003.

Denecker G, Vercammen D, Declercq W, Vandenaabeele P: Apoptotic and necrotic cell death induced by death domain receptors. *Cell Mol Life Sci*, 58(3): 356-370, 2001.

Deumens R, Blokland A, Prickaerts J: Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Exp. Neurol*, 175: 303-317, 2002.

Dhein J, Walczak H, Bäuml C, Debatin KM, Krammer PH: Autocrine T-cell suicide mediated by APO-1/(Fas/CD95). *Nature*, 373(6513): 438-441, 1995.

Di Paolo T, Falardeau P, Morissette M: Striatal D-2 dopamine agonist binding sites fluctuate during the rat estrous cycle. *Life Sci*, 43: 663-72, 1988.

Di X, Yan J, Zhao Y, Chang Y, Zhao B: L-theanine inhibits nicotine-induced dependence via regulation of the nicotine acetylcholine receptor-dopamine reward pathway. *Science China Life Sciences*, 55(12): 1064-1074, 2012.

Disshon KA, Dluzen DE: Estrogen as a neuromodulator of MPTP-induced neurotoxicity: effects upon striatal dopamine release. *Brain Res*, 764: 9-16, 1997.

Dluzen D, Ramirez VD: In vitro dopamine from rat striatum: diurnal rhythm and its modification by the estrous cycle. *Neuroendocrinology*, 41: 97-100, 1983.

Dluzen D: Estrogen decreases corpus striatal neurotoxicity in response to 6-hydroxydopamine. *Brain Res*, 767: 340-4, 1997.

Dluzen DE, McDermott JL, Liu B: Estrogen as a neuroprotectant against MPTP-induced neurotoxicity in C37/B1 mice. *Neurotoxicol Teratol*, 18: 603-6, 1996.

Dluzen DE, McDermott JL: Gender differences in neurotoxicity of the nigrostriatal dopaminergic system: implications for Parkinson's disease. *J Gender Specific Med*, 3: 36-42, 2000.

Drechsel DA, Patel M: Role of reactive oxygen species in the neurotoxicity of environmental agents implicated in Parkinson's disease. *Free Radic Biol Med*, 44: 1873-1886, 2008.

Dubayova T, Nagyova I, Havlikova E, Rosenberger J, Gdovinova Z, Middel B, van Dijk JP, Groothoff JW: Neuroticism and extraversion in association with quality of life in patients with Parkinson's disease. *Quality of Life Research*, 18: 33-42, 2009.

Dubayova T: Parkinson's disease psychological determinants of quality of life, University of Groningen, Thesis, 2010.

Dunnett SB, Björklund A, Lindvall O: Cell therapy in Parkinson's disease - stop or go? *Nature Reviews Neuroscience*, 2: 365-369, 2001.

Durmus H, Gokalp MA, Hanagasi HA: (). Prevalence of Parkinson's disease in Baskale, Turkey: a population based study. *Neurological Sciences*, 36(3): 411-413, 2015.

Duty S, Jenner P: Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease. *Br J Pharmacol*, 164(4): 1357-91, 2011.

Elmore S: Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*, 35(4): 495-516, 2007.

Fadini GP, Albiero M, Cignarella A, Bolego C, Pinna C, Boscaro E, Pagnin E, De Toni R, de Kreutzenberg S, Agostini C, Avogaro A: Effects of androgens on endothelial progenitor cells in vitro and in vivo. *Clin Sci (Lond)*, 117: 355-364, 2009.

Favaro WJ, Cagnon VH: Immunolocalization of androgen and oestrogen receptors in the ventral lobe of rat (*Rattus norvegicus*) prostate after long-term treatment with ethanol and nicotine. *Int J Androl*, 31: 609-618, 2008.

Fernagut PO, Chalon S, Diguët E, Guilloteau D, Tison F, Jaber M: Motor behaviour deficits and their histopathological and functional correlates in the nigrostriatal system of dopamine transporter knockout mice. *Neuroscience*, 116: 1123-1130, 2003.

Festjens N, Vanden Berghe T, Vandenabeele P: Necrosis, a well-orchestrated form of cell demise: signalling cascades, important mediators and concomitant immune response. *Biochim Biophys Acta*, 1757(9-10): 1371-1387, 2006.

Fleming SM, Salcedo J, Fernagut PO, Rockenstein E, Masliah E, Levine MS, Chesselet MF: Early and progressive sensorimotor anomalies in mice overexpressing wild-type human α -synuclein. *J Neurosci*, 24: 9434-9440, 2004.

Fuentes-Prior P, Salvesen GS: The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition. *Biochem J*, 384(Pt 2): 201-232, 2004.

Fujimoto ST, Longhi L, Saatman KE, Conte V, Stocchetti N, McIntosh TK: Motor and cognitive function evaluation following experimental traumatic brain injury. *Neurosci. Biobehav. Rev*, 28: 365-378, 2004.

Fulda S, Meyer E, Debatin KM: Inhibition of TRAIL-induced apoptosis by Bcl-2 overexpression. *Oncogene*, 21: 2283-2294, 2000.

Galea LA, Spritzer MD, Barker JM, Pawluski JL: Gonadal hormone modulation of hippocampal neurogenesis in the adult. *Hippocampus*, 16: 225-232, 2006.

Galea LA: Gonadal hormone modulation of neurogenesis in the dentate gyrus of adult male and female rodents. *Brain Res Rev*, 57: 332-341, 2008.

Gardai SJ, McPhillips KA, Frasnich SC, Janssen WJ, Starefeldt A, Murphy-Ullrich JE, Bratton DL, Oldenburg PA, Michalak M, Henson PM: Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte. *Cell*, 123(2): 321-334, 2005.

Gardiner SA, Morrison MF, Mozley PD, Mozley LH, Brensinger C, Bilker W, Newberg A, Battistini M: Pilot study on the effect of estrogen replacement therapy on brain dopamine transporter availability in healthy, postmenopausal women. *Am J Geriatr Psychiatry*, 12: 621-630, 2004.

Gatto NM, Deapen D, Stoyanoff S, Pinder R, Narayan S, Bordelon Y, Ritz B: Lifetime exposure to estrogens and Parkinson's disease in California teachers. *Parkinsonism Relat Disord* 20: 1149-1156, 2014.

Gilks WP, Abou-Sleiman PM, Gandhi S, Jain S, Singleton A, Lees AJ, Shaw K, Bhatia KP, Bonifati V, Quinn NP, Lynch J, Healy DG, Holton JL, Revesz T, Wood NW: A common LRRK2 mutation in idiopathic Parkinson's disease. *Lancet*, 365: 415-416, 2005.

Gillies GE, Murray HE, Dexter D, McArthur S: Sex dimorphisms in the neuroprotective effects of estrogen in an animal model of Parkinson's disease. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 78(3): 513-522, 2004.

Gillies GE, Pienaar IS, Vohra S, Qamhawi Z: Sex differences in Parkinson's disease. *Front Neuroendocrinol*, 35: 370-384, 2014.

Golstein P, Kroemer G: Cell death by necrosis: Towards a molecular definition. *Trends Biochem Sci*, 32(1): 37-43, 2007.

Gómez-Esteban JC, Zarranz JJ, Lezcano E, Tijero B, Luna A, Velasco F, Rouco I, Garamendi I. Influence of motor symptoms upon the quality of life of patients with Parkinson's Disease. *European Neurology*, 57: 161-165, 2007.

Gören B, Mimbay Z, Bilici N, Zafiroğlu M, Oğul E, Korfalı E: Investigation of neuroprotective effects of cyclooxygenase inhibitors in the 6-hydroxydopamine induced rat Parkinson model. *Turkish Neurosurgery*, 19(3): 230-236, 2009.

Green DR, Kroemer G: The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science*, 305 (5684): 626-629, 2004.

Green, DR, Reed JC: Mitochondria and apoptosis. *Science*, 281(5381): 1309-1312, 1998.

Greenamyre JT, Betarbet R, Sherer TB: The rotenone model of Parkinson's disease: Genes, environment and mitochondria. *Parkinsonism Relat Disord*, 9: 59-64, 2003.

Greenhalgh DG: The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol*, 30(9): 1019-1030, 1998.

Gross A, Mc Donnell JM, Korsmeyer SJ: BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Genes Dev*, 13: 1899-1911, 1999.

Grosset D, Taurah L, Burn DJ, MacMahon D, Forbes A, Turner K, Bowron A, Walker R, Findley L, Foster O, Patel K, Clough C, Castleton B, Smith S, Carey G, Murphy T, Hill J, Brechany U, McGee P, Reading S, Brand G, Kelly L, Breen K, Ford S, Baker M, Williams A, Hearne J, Qizilbash N, Chaudhuri KR: A multicentre longitudinal observational study of changes in self reported health status in people with Parkinson's disease left untreated at diagnosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 78: 465-469, 2007.

Gupta, S, Sharma B: Protective effects of phosphodiesterase-1 (PDE1) and ATP sensitive potassium (KATP) channel modulators against 3-nitropropionic acid induced behavioral and biochemical toxicities in experimental Huntington's disease. *Eur J Pharmacol*, 732: 111-122, 2014.

Haaxma CA, Bloem BR, Borm GF, Oyen WJ, Leenders KL, Eshuis S, Booij J, Dluzen DE, Horstink MW: Gender differences in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 78: 819-824, 2007.

Hamill RW, Tompkins JD, Girard BM, Kershen RT, Parsons RL, Vizzard MA: Autonomic dysfunction and plasticity in micturition reflexes in human alpha-synuclein mice. *Dev. Neurobiol*, 72: 918-936, 2012.

Hamm RJ, Pike BR, O'dell DM, Lyeth BG, Jenkins LW: The rotarod test: an evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 11: 187-196, 1994.

Haobam R, Sindhu KM, Chandra G, Mohanakumar KP: Swim-test as a function of motor impairment in MPTP model of Parkinson's disease: a comparative study in two mouse strains. *Behav Brain Res*, 163: 159-167. 2005.

Hatcher JM, Pennell KD, Miller GW: Parkinson's disease and pesticides: a toxicological perspective. *Trends Pharmacol Sci*, 29: 322-329, 2008.

Hatip I: Nörofarmakoloji Alanında Deneysel Çalışmalar ve Modeller. *Türkiye Klinikleri Journal of Neurology Special Topics*, 3(1): 204-218, 2010.

Haytural H, Tüzün E: Parkinson hastalığı'nın hayvan modelinde PI3K/Akt yolu ile mitokondriyal, oksidatif ve apoptotik parametrelerin ilişkisi. *Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 4(7): 28-37, 2014.

He Z, He YJ, Day AL, Simpkins JW: Proestrus levels of estradiol during transient global cerebral ischemia improves the histological outcome of the hippocampal CA1 region: Perfusion-dependent and-independent mechanisms. *J Neurol Sci*, 193: 79-87, 2002.

Heffernan ME, Huang W, Sicard KM, Bratane BT, Zhang N, Fisher M, King J, Sikoglu EM: Multi-modal approach for investigating brain and behavior changes in an animal model of traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 30 (11): 1007-1012, 2013.

Heikkila RE, Hess A, Duvoisin RC: Dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine in mice. *Science*, 224(4656): 1451-3, 1984.

Henson PM, Hume DA: Apoptotic cell removal in development and tissue homeostasis. *Trends Immunol*, 27(5): 244-250, 2006.

Hetts SW: To die or not to die: an overview of apoptosis and its role in disease. *JAMA* 279(4): 300-307, 1998.

Hickey MA, Chesselet MFO: Behavioral assessment of genetic mouse models of Huntington's disease. In: Lane EL, Dunnett SB (Eds.), *Animal Models of Movement Disorders*, vol. II. pp. 3-19. *Neuromethods*, 62, 2011.

Hickey MA, Gallant K, Gross GG, Levine MS, Chesselet MF: Early behavioral deficits in R6/2 mice suitable for use in preclinical drug testing. *Neurobiol Dis*, 20: 1-11, 2005.

Hirahara Y, Matsuda K, Gao W, Arvanitis DN, Kawata M, Boggs JM: The localization and non-genomic function of the membrane-associated estrogen receptor in oligodendrocytes. *Glia*, 57: 153-165, 2009.

Hobson P, Holden A, Meara J. Measuring the impact of Parkinson's disease with the Parkinson's Disease Quality of Life questionnaire. *Age and Ageing*, 28: 341-346, 1999.

Hoehn MM, Yahr MD: Parkinsonism: Onset, progression and mortality. *Neurology*, 17: 427-42, 1967.

Horstink M, Tolosa E, Bonuccelli U, Deuschl G, Friedman A, Kanovsky P, Larsen JP, Lees A, Oertel W, Poewe W, Rascol O, Sampaio C: European Federation of Neurological Societies; Movement Disorder Society-European Section. Review of the therapeutic management of Parkinson's disease. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Movement Disorder Society- European Section. Part I: early (uncomplicated) Parkinson's disease. *European Journal of Neurology*, 13: 1170-1185, 2006.

Hömborg V: Motor training in the therapy of Parkinson's disease. *Neurology*, 43(Suppl 6): S45-S46, 1993.

Hu S, Snipas SJ, Vincenz C, Salvesen G, Dixit VM: Caspase-14 is a novel developmentally regulated protease. *J Biol Chem*, 273(45): 29648-29653, 1998.

Isgor C, Watson SJ: Estrogen receptor alpha and beta mRNA expressions by proliferating and differentiating cells in the adult rat dentate gyrus and subventricular zone. *Neuroscience*, 134: 847-856, 2005.

Jellinger K a: Neuropathology of sporadic Parkinson's disease: Evaluation and changes of concepts. *Mov Disord*, 27: 8-30, 2012.

Jeon BS, Jackson-Lewis V, Burke RE: 6-Hydroxydopamine lesion of the rat substantia nigra: time course and morphology of cell death. *Neurodegeneration*, 4(2): 131-7, 1995.

Jonsson G: Chemical lesioning techniques: monoamine neurotoxins, in *Handbook of Chemical Neuroanatomy: Methods in Chemical Neuroanatomy*, A. Björklund and T. Hökfelt, Editors. The Netherlands: Elsevier Science Publishers B.V: Amsterdam. 463-507, 1983.

Kang SJ, Wang S, Kuida K, Yuan J: Distinct downstream pathways of caspase-11 in regulating apoptosis and cytokine maturation during septic shock response. *Cell Death Differ*, 9(10): 1115-1125, 2002.

Karl JM, Whishaw IQ: Rodent skilled reaching for modeling pathological conditions of the human motor system. In: Lane, E.L., Dunnett, S.B. (Eds.), *Animal Models of Movement Disorders*, vol. I. pp. 87–107. *Neuromethods*, 61, 2005.

Karlsen KH, Tandberg E, Arslan D, Larsen JP. Health related quality of life in Parkinson's disease: a prospective longitudinal study. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 69: 584–589, 1999.

Karlsen KH, Tandberg E, Arslan D, Larsen JP: Health related quality of life in Parkinson's disease: a prospective longitudinal study. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 69: 584–589, 2000.

Karuppagounder SS, Ahuja M, Buabeid M, Parameshwaran K, Abdel-Rehman E, Suppiramaniam V, Dhanasekaran M: Investigate the chronic neurotoxic effects of diquat. *Neurochem Res*, 37: 1102–1111, 2012.

Katzenellenbogen BS, Choi I, Delage-Mourroux R, Ediger TR, Martini PG, Montano M, Sun J, Weis K, Katzenellenbogen JA: Molecular mechanisms of estrogen action: selective ligands and receptor. *Pharmacology J Steroid Biochem Mol Biol*, 74: 279–285, 2000.

Kelly MJ, Rønnekleiv OK: Control of CNS neuronal excitability by estrogens via membrane-initiated signaling. *Mol Cell Endocrinol*, 308: 17–25, 2009.

Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR: Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 26(4): 239–257, 1972.

Kim JS, He L, Lemasters JJ: Mitochondrial permeability transition: a common pathway to necrosis and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 304(3): 463–470, 2003.

Kim M, Cho KH, Shin MS, Lee JM, Cho HS, Kim CJ, Shin DH, Yang HJ: Berberine prevents nigrostriatal dopaminergic neuronal loss and suppresses hippocampal apoptosis in mice with Parkinson's disease. *International Journal of Molecular Medicine*, 33(4): 870–878, 2014.

Kitson J, Raven T, Jiang YP, Goeddel DV, Giles KM, Pun KT, Grinham CJ, Brown R, Farrow SN: A death-domain-containing receptor that mediates apoptosis. *Nature*, 384(6607): 372–375, 1996.

Kleim JA, Boychuk JA, Adkins DL: Rat models of upper extremity impairment in stroke. *ILAR J*, 48: 374–384, 2007.

Knapczyk-Stwora K, Durliej M, Duda M, Czernichowska-Ferreira K, Tabecka-Lonczynska A, Slomczynska M: Expression of oestrogen receptor alpha and oestrogen receptor beta in the uterus of the pregnant swine. *Reprod Domest Anim*, 46(1): 1–7, 2011.

Kraus PH, Klotz P, Przuntek H: Sex differences for dopaminergic therapy in Parkinson's disease. *Parkinsonism Related Dis*, 3: S77–88, 1999.

Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES, Baehrecke EH, Blagosklonny MV, El-Deiry WS, Golstein P, Green DR, Hengartner M, Knight RA, Kumar S, Lipton SA, Malorni W, Nuñez G, Peter ME, Tschopp J, Yuan J, Piacentini M, Zhivotovsky B, Melino G: Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. *Cell Death Differ*, 16(1): 3–11, 2009.

Kuber RB, Thaakur SR: Neuroprotective effect of various extracts of *Prosopis chilensis* in MPTP induced neurotoxicity in mice. *J Chem Pharm Res*, 3: 143–152, 2011.

Kuiper GG, Shughrue PJ, Merchenthaler I, Gustafsson JA: The estrogen receptor beta subtype: a novel mediator of estrogen action in neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol*, 19: 253–286, 1998.

Kumar DM, Simpkins JW, Agarwal N: Estrogens and neuroprotection in retinal diseases. *Mol Vis*, 14: 1480-1486, 2008.

Lam HA, Wu N, Cely I, Kelly RL, Hean S, Richter F, Magen I, Cepeda C, Ackerson LC, Walwyn W, Masliah E, Chesselet MF, Levine MS, Maidment NT: Elevated tonic extracellular dopamine concentration and altered dopamine modulation of synaptic activity precede dopamine loss in the striatum of mice overexpressing human alpha-synuclein. *J Neurosci Res*, 89: 1091–1102, 2011.

Lancu R, Mohapel P, Brundin P, Paul G: Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice. *Behavioural Brain Research*, 162(1): 1–10, 2005.

Lang AE, Lozano AM: Parkinson's disease. First of two parts. *N Engl J Med*, 339: 1044–1053, 1998.

Lazebnik YA, Kaufmann SH, Desnoyers S, Poirier GG, Earnshaw WC: Cleavage of poly(ADP-ribose) polymerase by a proteinase with properties like ICE. *Nature*, 371(6495): 346-347, 1994.

Lazebnik YA, Takahashi A, Moir RD, Goldman RD, Poirier GG, Kaufmann SH, Earnshaw WC: Studies of the lamin proteinase reveal multiple parallel biochemical pathways during apoptotic execution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92(20): 9042-9046, 1995.

Lee KS, Merriman A, Owen A, Chew B, Tan TC: The medical, social, and functional profile of Parkinson's disease patients. *Singapore Medical Journal*, 35: 265-268, 1994.

Lee KW, Zhao X, Im JY, Grosso H, Jang WH, Chan TW, Sonsalla PK, German DC, Ichijo H, Junn E, Mouradian MM: Apoptosis signal-regulating kinase 1 mediates MPTP toxicity and regulates glial activation. *PloS one*, 7(1): e29935, 2012.

Leist M, Jaattela M: Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2(8): 589-598, 2001b.

Leist M, Jaattela M: Triggering of apoptosis by cathepsins. *Cell Death Differ*, 8(4): 324-326, 2001a.

Leranth C, Roth RH, Elsworth JD, Naftolin F, Horvath TL, Redmond JDE: Estrogen is essential for maintaining nigrostriatal dopamine neurons in primates: implications for Parkinson's disease and memory. *J Neurosci*, 20: 8604–8609, 2000.

Levine B, Klionsky DJ: Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev Cell*, 6(4): 463-477, 2004.

Levine B, Kroemer G: Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell*, 132(1): 27-42, 2008.

Levine B, Yuan J: Autophagy in cell death: an innocent convict? *J Clin Invest* 115(10): 2679-2688, 2005.

Li LY, Luo X, Wang X: Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature*, 412(6842): 95-99, 2001.

Li Z, Jo J, Jia JM, Lo SC, Whitcomb DJ, Jiao S, Cho K, Sheng M: Caspase-3 activation via mitochondria is required for long-term depression and AMPA receptor internalization. *Cell*, 141(5): 859-871, 2010.

Liebetanz D, Baier PC, Paulus W, Meuer K, Bahr M, Weishaupt JH: A highly sensitive automated complex running Wheel test to detect latent motor deficits in the mouse MPTP model of Parkinson's disease. *Exp Neurol*, 205: 207–213, 2007.

Lim LH, Pervaiz S: Annexin 1: the new face of an old molecule. *FASEB J*, 21(4): 968-975, 2007.

Lin TK, Cheng CH, Chen S Der, Liou CW, Huang CR, Chuang YC: Mitochondrial dysfunction and oxidative stress promote apoptotic cell death in the striatum via cytochrome c/ caspase-3 signaling cascade following chronic rotenone intoxication in rats. *Int J Mol Sci*, 13: 8722–8739, 2012a.

Lin X, Parisiadou L, Sgobio C, Liu G, Yu J, Sun L, Shim H, Gu XL, Luo J, Long CX, Ding J, Mateo Y, Sullivan PH, Wu LG, Goldstein DS, Lovinger D, Cai H: Conditional expression of Parkinson's disease-related mutant alpha-synuclein in the midbrain dopaminergic neurons causes progressive neurodegeneration and degradation of transcription factor nuclear receptor related. *J Neurosci*, 32: 9248–9264, 2012b.

Lindberg MK, Movérare S, Skrtic S, Gao H, Dahlman-Wright K, Gustafsson JA, Ohlsson C: Estrogen receptor (ER)-beta reduces ERalpha-regulated gene transcription, supporting a “ying yang” relationship between ERalpha and ERbeta in mice. *Mol Endocrinol*, 17: 203-208, 2003.

Lindvall O, Björklund A: Cell therapy in Parkinson's disease. *NeuroRx*. 1: 382-393, 2004.

Litim N, Morissette M, Di Paolo T: Neuroactive gonadal drugs for neuroprotection in male and female models of Parkinson's disease. *Neurosci Biobehav Rev*, 67: 79–88, 2016.

Lizotte E, Grandy SA: Tremblay A, Allen B.G, Fiset C. Expression, distribution and regulation of sex steroid hormone receptors in Mouse heart. *Cell Physiol Biochem*, 23: 75-86, 2009.

Loonam TM, Noailles PAH, Yu J, Zhu JPQ, Angulo JA: Substance P and cholecystokinin regulate neurochemical responses to cocaine and methamphetamine in the striatum. *Life Sci*, 73: 727–739, 2003.

Lorenzo HK, Susin SA, Penninger J, Kroemer G: Apoptosis inducing factor (AIF): a phylogenetically old, caspase-independent effector of cell death. *Cell Death Differ*, 6(6): 516-524, 1999.

Lorivel T, Hilber P: Motor effects of delta 9 THC in cerebellar Lurcher mutant mice. *Behav Brain Res*, 181: 248–253, 2007.

Lotharius J, Brundin P: Pathogenesis of parkinson's disease: Dopamine, vesicles and alpha-synuclein. *Nat Rev Neurosci*, 3(12): 932-942, 2002.

MacFarlane M, Ahmad M, Srinivasula SM, Fernandes-Alnemri T, Cohen GM, Alnemri ES: Identification and molecular cloning of two novel receptors for the cytotoxic ligand TRAIL. *J Biol Chem*, 272(41): 25417-25420, 1997.

Macleod M: Inequalities in the incidence and management of, and outcome from, neurological diseases in older people. *Reviews in Clinical Gerontology*, 13: 261-268, 2004.

Macphee GJA, Stewart DA: Parkinson's disease. *Reviews of Clinical Gerontology*, 16: 1-21, 2006.

Magen I, Chesselet MF: Genetic mouse models of Parkinson's disease: the state of the art. In: Chandrasekhar Pammi, V.S., Srinivasan, N. (Eds.), *Progress in Brain Research*, 184: 53–87, 2010.

Malik S: Syndactyly: phenotypes, genetics and current classification. *Eur J Hum Genet*, 20(8): 817-824. 2012.

Mann A, Chesselet M: *Techniques for Motor Assessment in Rodents, Movement Disorders (Second Edition)*, 139–157, 2015.

Marder K, Tang MX, Alfaró B, Mejia H, Cote L, Jacobs D, Stern Y, Sano M, Mayeux R: Postmenopausal estrogen use and Parkinson's disease with and without dementia. *Neurology*, 30: 1141–1143, 1998.

Martin SJ, Green DR: Protease activation during apoptosis: death by a thousand cuts? *Cell*, 82(3): 349-352, 1995.

Mashima T, Naito M, Fujita N, Noguchi K, Tsuruo T: Identification of actin as a substrate of ICE and an ICE-like protease and involvement of an ICE-like protease but not ICE in VP-16-induced U937 apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 217(3): 1185-1192, 1995.

Matsuura K, Kabuto H, Makino H, Ogawa N: Pole test is a useful method for evaluating the mouse movement disorder caused by striatal dopamine depletion. *J Neurosci Methods*, 73: 45-48, 1997.

Matthews J, Gustafsson JA: Estrogen signaling: A subtle balance between ER alpha and ER beta. *Mol Interv*, 3: 281-292, 2003.

Mayer B, Oberbauer R: Mitochondrial regulation of apoptosis. *News Physiol Sci*, 18: 89-94, 2003.

Mayeux R, Denaro J, Hemenegildo N, Marder K, Tang M-X, Cote LJ, Stern Y: A population-based investigation of Parkinson's disease with and without dementia. Relationship to age and gender. *Arch Neurol*, 49: 492-7, 1992.

McDermott JL, Liu B, Dluzen DE: Sex differences and effects of estrogen on dopamine and DOPAC release from the striatum of male and female CD-1 mice. *Exp Neurol*, 123: 306-11, 1994.

McMillan J, Fatehi-Sedeh S, Sylvia VL, Bingham V, Zhong M, Boyan BD, Schwartz Z: Sex-specific regulation of growth plate chondrocytes by estrogen is via multiple MAP kinase signaling pathways. *Biochim Biophys Acta*, 1763: 381-392, 2006.

Meier P, Finch A, Evan G: Apoptosis in development. *Nature*, 407(6805): 796-801, 2000.

Meredith GE, Kang UJ: Behavioral models of Parkinson's disease in rodents: a new look at an old problem. *Mov Disord*, 21: 1595-1606, 2006.

Mermelstein PG: Membrane-localised oestrogen receptor alpha and beta influence neuronal activity through activation of metabotropic glutamate receptors. *J Neuroendocrinol*, 21: 257-262, 2009.

Meyer MR, Haas E, Prossnitz ER, Barton M: Non-genomic regulation of vascular cell function and growth by estrogen. *Mol Cell Endocrinol*, 308: 9-16, 2009.

Minn AJ, Vélez P, Schendel SL, Liang H, Muchmore SW, Fesik SW, Fill M, Thompson CB: Bcl-x (L) forms an ion channel in synthetic lipid membranes. *Nature*, 385(6614): 353-357, 1997.

Miquel C, Borrini F, Grandjouan S, Aupérin A, Viguier J, Velasco V, Duvillard P, Praz F, Sabourin JC: Role of bax mutations in apoptosis in colorectal cancers with microsatellite instability. *Am J Clin Pathol*, 23(4): 562-570, 2005.

Moisan F, Kab S, Mohamed F, Canonico M, Le Guern M, Quintin C, Carcaillon L, Nicolau J, Duport N, Singh-Manoux A, Boussac-Zarebska M, Elbaz A: Parkinson disease male-to-female ratios increase with age: French nationwide study and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 87: 952-957, 2015.

Monroe DG, Getz BJ, Johnsen SA, Riggs BL, Khosla S, Spelsberg TC: Estrogen receptor isoform-specific regulation of endogenous gene expression in human osteoblastic cell lines expressing either ERalpha or ERbeta. *J Cell Biochem*, 90: 315-326, 2003.

Monti B, Gatta V, Piretti F, Raffaelli SS, Virgili M, Contestabile A: Valproic acid is neuroprotective in the rotenone rat model of Parkinson's disease: involvement of alpha-synuclein. *Neurotox Res*, 17: 130-41, 2010.

- Monville C, Torres EM, Dunnett SB: Comparison of incremental and accelerating protocols of the rotarod test for the assessment of motor deficits in the 6-OHDA model. *J Neurosci Methods*, 158: 219–223, 2006.
- Mori A, Ohashi S, Nakai M, Moriizumi T, Mitsumoto Y: Neural mechanisms underlying motor dysfunction as detected by the tail suspension test in MPTP-treated C57BL/6 mice. *Neurosci Res*, 51: 265–74, 2005.
- Morissette M, Di Paolo T: Effect of chronic estradiol and progesterone treatments of ovariectomized rats on brain dopamine uptake sites. *J Neurochem*, 60: 1876–83, 1993.
- Morris R: Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of neuroscience methods*, 11(1): 47–60, 1984.
- Muangpaisan W, Hori H, Brayne C: Systematic review of the prevalence and incidence of Parkinson's disease in Asia. *Journal of Epidemiology*, 19: 281–293, 2009.
- Mulcahy P, Walsh S, Paucard A, Rea K, Dowd E: Characterisation of a novel model of parkinson's disease by intra-striatal infusion of the pesticide rotenone. *Neuroscience*, 181: 234–242, 2011.
- Murray TV, McMahon JM, Howley BA, Stanley A, Ritter T, Mohr A, Zwacka R, Fearnhead HO: A non-apoptotic role for caspase-9 in muscle differentiation. *J Cell Sci*, 121(22): 3786–3793, 2008.
- Mylne AQ, Griffiths C, Rooney C, Doyle P: Trends in Parkinson's disease related mortality in England and Wales, 1993–2006. *European Journal of Neurology*, 16: 1010–1016, 2009.
- Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, Xu J, Yankner BA, Yuan J: Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature*, 403(6765): 98–103, 2000.
- Nakaso K, Horikoshi Y, Takahashi T, Hanaki T, Nakasone M, Kitagawa Y, Koike T, Matura T: Estrogen receptor-mediated effect of δ -tocotrienol prevents neurotoxicity and motor deficit in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Neuroscience letters*, 610: 117–122, 2016.
- Nicoletti A, Arabia G, Pugliese P, Nicoletti G, Torchia G, Condino F, Morgante L, Quattrone A, Zappia M: Hormonal replacement therapy in women with Parkinson disease and levodopa-induced dyskinesia: a crossover trial. *Clin Neuropharmacol*, 30: 276–280, 2007.
- Norazit A, Meedeniya ACB, Nguyen MN, Mackay-Sim A: Progressive loss of dopaminergic neurons induced by unilateral rotenone infusion into the medial forebrain bundle. *Brain Res*, 1360: 119–129, 2010.
- Norbury CJ, Hickson ID: Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 41: 367–401, 2001.
- Nordström U, Beauvais G, Ghosh A, Sasidharan BCP, Lundblad M, Fuchs J, Joshi RL, Lipton JW, Roholt A, Medicetty S, Feinstein TN, Steiner JA, Galvis MLE, Prochiantz A, Brundin P: Progressive nigrostriatal terminal dysfunction and degeneration in the engrailed1 heterozygous mouse model of Parkinson's disease. *Neurobiology of disease*, 73: 70–82, 2015.
- Ogawa N, Hirose Y, Ohara S, Ono T, Watanabe Y: A simple quantitative bradykinesia test in MPTP-treated mice. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 50: 435–441, 1985.
- Ogawa N, Mizukawa K, Hirose Y, Kajita S, Ohara S, Watanabe Y: MPTP-induced parkinsonian model in mice: biochemistry, pharmacology and behavior. *Eur Neurol*, 26 (1): 16–23, 1987.

Ohtani H, Nomoto M, Douchi T: Chronic estrogen treatment replaces striatal dopaminergic function in ovariectomized rats. *Brain Res*, 900: 163–8, 2001.

Okubadejo NU, Bower JH, Rocca WA, Maraganore DM: Parkinson's disease in Africa: A systematic review of epidemiologic and genetic studies. *Movement Disorders*, 21: 2150-2156, 2006.

Olveczky BP: Motoring ahead with rodents. *Curr Opin Neurobiol*, 21: 571–578, 2011.

Özsoy O, Tanriover G, Derin N, Uysal N, Demir N, Gemici B, Kencebay C, Yargicoglu P, Agar A, Aslan M: The effect of docosahexaenoic acid on visual evoked potentials in a mouse model of Parkinson's disease: the role of cyclooxygenase-2 and nuclear factor kappa-B. *Neurotoxicity research*, 20(3): 250-262, 2011.

Özsoy Ö: Deneysel Parkinson Modeline Glutasyon İzopropil Esterin Etkisi Ve Mekanizması. Doktora Tezi. Antalya, 2012.

Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM, Gentz R, Ebner R, Ni J, Dixit VM: The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science* 276(5309): 111-113. 1997.

Papapetropoulos S, Mash DC: Psychotic symptoms in Parkinson's disease. From description to etiology. *Journal of Neurology*, 252: 753-764, 2005.

Parborell F, Irusta G, Vitale A, Gonzalez O, Pecci A, Tesone M: Gonadotropin-releasing hormone antagonist antide inhibits apoptosis of preovulatory follicle cells in rat ovary. *Biol Reprod*, 72: 659-666, 2005.

Parkinson J: An essay on the Shaking Palsy. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 14: 223-236, 2002.

Pasqualini C, Olivier V, Guibert B, Frain O, Leviel V: Acute stimulatory effect of estradiol on striatal dopamine synthesis. *J Neurochem*, 63: 1631–7, 1993.

Pasqualini C, Olivier V, Guibert B, Frain O, Leviel V: Rapid stimulation of striatal dopamine synthesis by estradiol. *Cell Mol Neurobiol*, 16: 411–3, 1996.

Petit GH, Olsson TT, Brundin P: The future of cell therapies and brain repair: Parkinson's disease leads the way. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 40: 60–70, 2014.

Pezzoli G, Zini M: Levodopa in Parkinson's disease: from the past to the future. *Expert Opinion On Pharmacotherapy*, 11: 627-635, 2010.

Pignatelli A, Kobayashi K, Okano H, Belluzzi O: Functional properties of dopaminergic neurones in the mouse olfactory bulb. *J Physiol*, 564: 501-514, 2005.

Pinkoski MJ, Waterhouse NJ, Green DR: Mitochondria, apoptosis and autoimmunity. *Curr Dir Autoimmun*, 9: 55-73, 2006.

Plowman EK, Kleim JA: Behavioral and neurophysiological correlates of striatal dopamine depletion: a rodent model of Parkinson's disease. *J Commun Disord*, 44: 549–556, 2011.

Popovic N, Caballero-Bleda M, Popovic M: Post-Training Scopolamine Treatment Induced maladaptive behavior in open field habituation task in rats. *PLoS One*, 9: e100348, 2014.

Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M: Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266: 730–732, 1977.

Prange-Kiel J, Rune GM: Direct and indirect effects of estrogen on rat hippocampus. *Neuroscience*, 138: 765-772, 2006.

Raff MC: Social controls on cell survival and cell death. *Nature*, 356: 397-400, 1992.

Rajput AH, Offord KP, Beard CM, Kurland LT: Epidemiology of parkinsonism: Incidence, classification, and mortality. *Annals of Neurology*, 16: 278-282, 1984.

Rauch F, Schwabe K, Krauss JK: Effect of deep brain stimulation in the pedunculopontine nucleus on motor function in the rat 6-hydroxydopamine Parkinson model. *Behav Brain Res*, 210: 46-53, 2010.

Recchia A, Debetto P, Negro A, Guidolin D, Skaper SD, Giusti P: Alpha-synuclein and Parkinson's disease. *FASEB J*, 18: 617-626, 2004.

Richfield EK, Thiruchelvam MJ, Cory-Slechta DA, Wuertzer C, Gainetdinov RR, Caron MG, Di Monte DA, Federoff HJ: Behavioral and neurochemical effects of wild-type and mutated human alpha-synuclein in transgenic mice. *Exp Neurol*, 175: 35-48, 2002.

Richter F, Hamann M, Richter A: Chronic rotenone treatment induces behavioral effects but no pathological signs of parkinsonism in mice. *J Neurosci Res*, 85: 681-691, 2007.

Rockenstein E, Mallory M, Hashimoto M, Song D, Shults CW, Lang I, Masliah E: Differential neuropathological alterations in transgenic mice expressing alpha-synuclein from the platelet-derived growth factor and Thy-1 promoters. *J Neurosci Res*, 68: 568-578, 2002.

Rodriguez-Perez AI, Dominguez-Meijide A, Lanciego JL, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL: Inhibition of Rho kinase mediates the neuroprotective effects of estrogen in the MPTP model of Parkinson's disease. *Neurobiology of disease*, 58: 209-219, 2013.

Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J: Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*, 288: 321-333, 2002.

Roth J, Sekyrova M, Ruzicka E, Dvorak J, Kanovsky P, Rektorova I, Ristovska H: *Parkinsonova nemoc. [Parkinson's disease]*. Praha: Maxdorf, 1999.

Samantaray S, Knaryan VH, Guyton MK, Matzelle DD, Ray SK, Banik NL: The parkinsonian neurotoxin rotenone activates calpain and caspase-3 leading to motoneuron degeneration in spinal cord of Lewis rats. *Neuroscience*, 146: 741-755, 2007.

Saravanan KS, Sindhu KM, Mohanakumar KP: Acute intranigral infusion of rotenone in rats causes progressive biochemical lesions in the striatum similar to Parkinson's disease. *Brain Res*, 1049:147-155, 2005.

Sathiya S, Ranju V, Kalaivani P, Priya RJ, Sumathy H, Sunil AG, Babu CS: Telmisartan attenuates MPTP induced dopaminergic degeneration and motor dysfunction through regulation of alpha-synuclein and neurotrophic factors (BDNF and GDNF) expression in C57BL/6J mice. *Neuropharmacology*, 73: 98-110, 2013.

Schaar KL, Brenneman MM, Savitz SI: Functional assessments in the rodent stroke model. *Exp Transl Stroke Med*, 2: 13, 2010.

Schallert T, Fleming SM, Leasure JL, Tillerson JL, Bland ST: CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury. *Neuropharmacology*, 39: 777-787, 2000.

Sedelis M, Schwarting RK, Huston JP: Behavioral phenotyping of the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res*, 125: 109-125, 2001.

Sedy J, Urdzikova L, Jendelova P, Sykova E: Methods for behavioral testing of spinal cord injured rats. *Neurosci Biobehav Rev*, 32: 550–580, 2008.

Sherer TB, Kim J-H, Betarbet R, Greenamyre JT: Subcutaneous Rotenone Exposure Causes Highly Selective Dopaminergic Degeneration and α -Synuclein Aggregation. *Exp Neurol*, 179: 9–16, 2003.

Shulman LM: Gender differences in Parkinson's disease. *Gender Medicine*, 4: 8-18, 2007.

Shulman LM: Is there a connection between estrogen and Parkinson's disease? *Parkinsonism & related disorders*, 8(5): 289-295, 2002.

Sica M, Martini M, Viglietti-Panzica C, Panzica G: Estrous cycle influences the expression of neuronal nitric oxide synthase in the hypothalamus and limbic system of female mice. *BMC Neurosci*, 10: 78, 2009.

Simons G, Thompson SB, Smith-Pasqualini MC: An innovative education program for people with Parkinson's disease and their carers. *Parkinsonism and Related Disorders*, 12: 478-485, 2006.

Sindhu KM, Saravanan KS, Mohanakumar KP: Behavioral differences in a rotenone-induced hemiparkinsonian rat model developed following intranigral or median forebrain bundle infusion. *Brain Res* 1051(1–2): 25–34, 2005.

Smith CA, Farrah T, Goodwin RG: The TNF receptor superfamily of cellular and viral proteins: activation, costimulation, and death. *Cell*, 76(6): 959-962, 1994.

Smith KM, Dahodwala N: Sex differences in Parkinson's disease and other movement disorders. *Exp Neurol*, 259: 44–56, 2014.

Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P: The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacol Berl*, 85: 367–370, 1985.

Strijks E, Kremer JA, Horstink MW: Effects of female sex steroids on Parkinson's disease in postmenopausal women. *Clin Neuropharmacol*, 22: 93–97, 1999.

Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N, Marzo I, Snow BE, Brothers GM, Mangion J, Jacotot E, Costantini P, Loeffler M, Larochette N, Goodlett DR, Aebersold R, Siderovski DP, Penninger JM, Kroemer G: Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature*, 397(6718): 441-446, 1999.

Suzuki Y, Imai Y, Nakayama H, Takahashi K, Takio K, Takahashi R: A serine protease, HtrA2, is released from the mitochondria and interacts with XIAP, inducing cell death. *Mol Cell*, 8(3): 613-621, 2001.

Tartaglia LA, Rothe M, Hu YF, Goeddel DV: Tumor necrosis factor's cytotoxic activity is signaled by the p55 TNF receptor. *Cell*, 73(2): 213-216, 1993.

Tasselli M, Chaumette T, Paillusson S, Monnet Y, Lafoux A, Huchet-Cadiou C, Aubert P, Hunot S, Derkinderen P, Neunlist M: Effects of oral administration of rotenone on gastrointestinal functions in mice. *Neurogastroenterol Motil*, 25: 183–193, 2013.

Tekin ME: Sağlık Bilimleri İçin Örneklerle Bilgisayarda İstatistik. II. Baskı, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, 2010.

Teng J, Wang ZY, Jarrard DF, Bjorling DE: Roles of estrogen receptor alpha and beta in modulating urothelial cell proliferation. *Endocr Relat Cancer*, 15: 351-364, 2008.

Thompson CB: Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*, 267(5203): 1456-1462, 1995.

Thorburn A: Death receptor-induced cell killing. *Cell Signal*, 16(2): 139-144, 2004.

Thornberry NA, Lazebnik Y: Caspases: enemies within. *Science*, 281(5381): 1312-1316, 1998.

Thornberry NA, Rano TA, Peterson EP, Rasper DM, Timkey T, Garcia-Calvo M, Houtzager VM, Nordstrom PA, Roy S, Vaillancourt JP, Chapman KT, Nicholson DW: A combinatorial approach defines specificities of members of the caspase family and granzyme B. Functional relationships established for key mediators of apoptosis. *J Biol Chem*, 272(29): 17907-17911, 1997.

Thornberry NA: Caspases: a decade of death research. *Cell Death Differ*, 6(11): 1023-1027, 1999.

Tillerson JL, Caudle WM, Reveron ME, Miller GW: Detection of behavioral impairments correlated to neurochemical deficits in mice treated with moderate doses of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Exp Neurol*, 178: 80-90, 2002.

Tomikawa J, Homma T, Tajima S, Shibata T, Inamoto Y, Takase K, Inoue N, Ohkura S, Uenoyama Y, Maeda KI, Tsukamura H: Molecular Characterization and Estrogen Regulation of Hypothalamic KISS1 Gene in the Pig. *Biol Reprod* 82(2): 313-9, 2009.

Toran-Allerand CD, Tinnikov AA, Singh RJ, Nethrapalli IS: 17alpha-estradiol: A brain-active estrogen? *Endocrinology*, 146: 3843- 3850, 2005.

Toran-Allerand CD: Estrogen and the brain: Beyond ER-alpha and ER-beta. *Exp Gerontol*, 39: 1579-1586, 2004.

Toran-Allerand CD: Estrogen and the brain: Beyond ER-alpha, ER-beta, and 17beta-estradiol. *Ann NY Acad Sci*, 1052: 136-144, 2005.

Toulouse A, Sullivan AM: Progress in Parkinson's disease-Where do we stand? *Prog Neurobiol*, 85: 376-392, 2008.

Tsang K, Ho S, Lo S: Estrogen improves motor disability in parkinsonian postmenopausal women with motor fluctuations. *Neurology*, 54: 2292-2298, 2000.

Valadas JS, Vos M, Verstreken P: Therapeutic strategies in Parkinson's disease: what we have learned from animal models. *Ann N Y Acad Sci*, 1338: 16-37, 2014.

Van den Eeden SK, Tanner CM, Bernstein AL, Fross RD, Leimpeter A, Bloch DA, Nelson LM: Incidence of Parkinson's disease: variation by age, gender, and race/ethnicity. *American Journal of Epidemiology*, 157: 1015-1022, 2003.

Van Der Bruggen H, Widdershoven G: Being a Parkinson's patient: immobile and unpredictably whimsical literature and existential analysis. *Medicine, Healthcare and Philosophy*, 7: 289-301, 2004.

Vasudevan N, Pfaff DW: Non-genomic actions of estrogens and their interaction with genomic actions in the brain. *Front Neuroendocrinol*, 29: 238-257, 2008.

Vieira HL, Kroemer G: Pathophysiology of mitochondrial cell death control. *Cell Mol Life Sci*, 56(11-12): 971-976, 1999.

Vila M, Vukosavic S, Jackson-Lewis V, Neystat M, Jakowec M, Przedborski S: Alpha-synuclein up-regulation in substantia nigra dopaminergic neurons following administration of the parkinsonian toxin MPTP. *J Neurochem*, 74: 721-729, 2000.

Von Campenhausen S, Bornschein B, Wick R, Bötzel K, Sampaio C, Poewe W, Oertel W, Siebert U, Berger K, Dodel R: Prevalence and incidence of Parkinson's disease in Europe. *European Neuropsychopharmacology*, 15: 473-490, 2005.

Von Wrangel C, Schwabe K, John N, Krauss JK, Alam M: The rotenone-induced rat model of Parkinson's disease: behavioral and electrophysiological findings. *Behavioural brain research*, 279: 52-61, 2015.

Walczak H, Krammer PH: The CD95 (APO-1/Fas) and the TRAIL (APO-2L) apoptosis systems. *Exp Cell Res*, 256(1): 58-66, 2000.

Weetman J, Wong MB, Sharry S, Rcom-H'cheo-Gauthier A, Gai WP, Meedeniya A, Pountney DL: Increased SUMO-1 expression in the unilateral rotenone-lesioned mouse model of Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, 544: 119-124, 2013.

Winter Y, Von Campenhausen S, Brozova H, Skoupa J, Reese JP, Bötzel K, Eggert K, Oertel WH, Dodel R, Ruzicka E: Costs of Parkinson's disease in Eastern Europe: A Czech cohort study. *Parkinsonism and Related Disorders*, 16: 51-56, 2010.

Wright CE, Sisson TL, Ichhpurani AK, Peters GR: Steady-state pharmacokinetic properties of pramipexole in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol*, 37: 320-3, 1997.

Yang JC, Cortopassi GA: Induction of the mitochondrial permeability transition causes release of the apoptogenic factor cytochrome c. *Free Radic Biol Med*, 24(4): 624-631, 1998.

Yang Y, Liu X, Long Y, Wang F, Ding JH, Liu SY, Sun YH, Yao HH, Wang H, Wu J, Hu G: Activation of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels improves rotenone-related motor and neurochemical alterations in rats. *Int J Neuropsychopharmacol*, 9: 51-61, 2006.

Zeiss CJ: The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice. *Vet Pathol*, 40(5): 481-495, 2003.

Zhang ZN, Zhang JS, Xiang J, Yu ZH, Zhang W, Cai M, Li XT, Wu T, Li WW, Cai DF: Subcutaneous rotenone rat model of Parkinson's disease: Dose exploration study. *Brain research*, 1655: 104-113, 2017.

Zhao C, Dahlman-Wright K, Gustafsson JA: Estrogen receptor beta: An overview and update. *Nucl Recept Signal*, 1: 6: e003, 2008.

Zou H, Li Y, Liu X, Wang X: An APAF-1/cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9. *J Biol Chem*, 274(17): 11549-11556, 1999.

ÖZGEÇMİŞ**MUSTAFA MAKAV**

Uyruk : TC
Doğum Tarihi : 04/06/1986
Doğum Yeri : DENİZLİ
Cep Tel : 0 536 945 2883
E-Posta : mustafamakav@gmail.com

Eğitim

2016-	Önlisans	Atatürk Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi/Hukuk Bölümü/Adalet Pr. (Açıköğretim)
2014-	Doktora	Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Merkez/KARS
2010-2013	Y. Lisans	Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Merkez/KARS
2005-2010	Lisans	Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Merkez/KARS
2000-2004	Lise	Tavas Süper Lise (YDA), Tavas/DENİZLİ
