

T.C
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL PARKİNSON OLUŞTURULAN FARELERDE
TOTAL OKSİDAN / ANTIOKSİDAN KAPASİTE,
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ, LİPİD PROFİLİ ve TOTAL
SİALİK ASİT ÜZERİNE KAFEİK ASİT FENETİL ESTER'İN
KORUYUCU ETKİSİ

Öğr. Gör. Hacı Ahmet DEVECİ
BIYOKİMYA ANABİLİM DALI

Doktora Tezi

Danışman
Doç. Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN

2012-KARS

T.C
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL PARKİNSON OLUŞTURULAN FARELERDE
TOTAL OKSİDAN / ANTIOKSİDAN KAPASİTE,
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ, LİPİD PROFİLİ ve TOTAL
SİALİK ASİT ÜZERİNE KAFEİK ASİT FENETİL ESTER'İN
KORUYUCU ETKİSİ

Öğr. Gör. Hacı Ahmet DEVECİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Doktora Tezi

Danışman

Doç. Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN

2012-KARS

Bu Tez KAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: 2011-VF-39

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyokimya Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde Öğr. Gör. Hacı Ahmet DEVECİ'nin, Doç. Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN danışmanlığında doktora tezi olarak hazırladığı “**Deneysel Parkinson Oluşturulan Farelerde Total Oksidan/Antioksidan Kapasite, Paraoksonaz Aktivitesi, Lipid Profili ve Total Sialik Asit Üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester’in Koruyucu Etkisi**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy ...*Bırlıpi*... ile ...*kabül*... edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: *19/12*/2012

Adı ve Soyadı

Başkan : Prof.Dr. Ayla ÖZCAN
Üye : Prof.Dr. Necati UTLU
Üye : Prof.Dr.Mehmet ÇİTİL
Üye : Doç.Dr.Mahmut KARAPEHLİVAN
Üye : Doç.Dr. Emine ATAKIŞI

İmza

Abul
Lutf
Mahmut
Emine

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun *25/12*/2012 gün ve ...*33/200*...sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Mehmet Çitil
Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Simgeler ve Kısaltmalar	I
Grafikler Dizini	III
Tablolar Dizini	IV
Şekiller Dizini	V
Resimler Dizini	VI
Önsöz	VII
1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER	1
1.1.Pestisitler.....	1
1.1.1. Tanım ve Sınıflandırma.....	1
1.1.2. İnsektisitler.....	2
1.1.2.1. Organofosfatlı (Organofosforlu) İnsektisitler	3
1.1.2.1.1. Organofosfatlı İnsektisitlerin Etki Mekanizması ve Detoksifikasyonu	4
1.1.3. Klorprifos-Etil	5
1.1.3.1. Klorprifosun Metabolizması ve Eliminasyonu	6
1.1.3.2. Klorprifosun Nörotoksitesi ve Oksidatif Hasar	7
1.2. Parkinson Hastalığı	10
1.2.1. Parkinson Hastalığı ve Dopaminerjik Sistem İlişkisi.....	10
1.2.2. Parkinson Hastalığı'nın Klinik Bulguları.....	12
1.2.3. Parkinson Hastalığı'nı Etkileyen Faktörler.....	12
1.2.4. Parkinson Hastalığı'nın Nörokimyasal ve Nöropatolojik Özellikleri.....	14
1.2.5. Parkinson Hastalığı'nın Patogenezi	16
1.2.6. Deneysel Parkinson Hastalığı Oluşturma Modelleri.....	19
1.3. Organizmada Oksidan ve Antioksidan Durum	21
1.4. Paraoksonaz Enzimi (PON, E.C.3.1.8.1)	25

1.4.1. Paraoksonazın Yapısal Özellikleri	26
1.4.2. Paraoksonazın Biyolojik Fonksiyonları	29
1.4.3. Paraoksonazın Sentezi ve Salgılanması	30
1.4.4. Paraoksonazın Organofosfat Detoksifikasyonu	30
1.5. Plazma Lipidleri	34
1.6. Kafeik Asit Fenetil Ester'in Yapısı ve Kimyasal Özellikleri.....	38
1.6.1. CAPE'nin Nöroprotektif ve Antioksidan Etkisi	39
1.7. Sialik Asit.....	41
2. MATERYAL ve METOT	44
2.1. Materyal	44
2.1.1. Hayvanlardan Kan ile Doku Örneklerinin Alınması ve İşlenmesi.....	45
2.2. Metot.....	45
2.2.1. Kullanılan Alet ve Malzemeler.....	45
2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	46
2.2.3. Doku Homojenizasyonu İçin Kullanılan Tampon Çözelti.....	46
2.2.4. Deney Süresince Hayvanlarda Gözlemlenen Değişimlerin Takibi.....	47
2.2.4.1. Genel Hareketlerin İzlenmesi (Ludolp Hareket Analizi).....	47
2.2.4.2. Motor Aktivite Tayini.....	47
2.2.5. Biyokimyasal Analizler.....	48
2.2.5.1. Plazma ve Doku Total Antioksidan ve Total Oksidan Kapasite Analizi.....	48
2.2.5.1.1. Total Antioksidan Kapasite Analizi.....	48
2.2.5.1.2. Total Oksidan Kapasite Analizi.....	49
2.2.5.2. Plazma ve Doku Paraoksonaz Aktivite Analizi.....	50
2.2.5.3. Plazma Total Kolesterol, Trigliserit, HDL, LDL ve VLDL Analizi.....	52
2.2.5.4. Plazma ve Doku Total Sialik Asit Analizi.....	52
2.2.6. Histopatolojik İncelemeler.....	54
2.2.7. İstatistiksel Hesaplamalar.....	54

3. BULGULAR.....	55
4. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	71
5. ÖZET	77
6. ABSTRACT.....	78
7. ÖZGEÇMİŞ.....	79
8. KAYNAKLAR.....	80

SİMGELER ve KISALTMALAR

AH	: Alzheimer Hastalığı
Apo	: Apolipoprotein
CAPE	: Kafeik Asit Fenetil Ester
CPF	: Klorprifos-etil
COMT	: Katekol-O-Metil Transferaz
DA	: Dopamin
DAT	: Dopamin Taşıyıcısı
DOPAC	: 3,4-dihidroksi Fenil Asetik Asit
DOPET	: 3,4-dihidroksi Fenil Etanol
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
GABA	: Gamma Amino Bütirik Asit
GPe	: Globus Pallidus Eksternus
GPI	: Globus Pallidus İnternus
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HVA	: Homovanilik Asit
6-OHDA	: 6-Hidroksidopamin
LB	: Lewy Body Cisimciği
L-DOPA	: L-3,4-dihidroksi Fenilalanin
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoproteinler
LOO•	: Lipid Peroksil Radikali
LOOH•	: Lipid Hidroperoksit
LP	: Lipid Peroksidasyonu
MAO	: Monoamin Oksidaz Enzimi
MOPET	: 3-metoksi-4-hidroksi Fenil Etanol
3-MT	: 3-Metoksi Tiramin
MPTP	: 1-metil-4-fenil 1,2,3,6 tetrahidropiridin
Neu5Ac	: N-Asetil Nöraminik Asit
Neu5Gc	: N-Glikolil Nöraminik Asit
OP	: Organofosfatlı Pestisitler
PAFAH	: Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz

PH	: Parkinson Hastalığı
PON1	: Paraoksonaz
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SA	: Sialik Asit
SN	: Substansia Nigra
SNpc	: Substansia Nigra pars kompakta
SNpr	: Substansia Nigra pars retikülata
SH	: Sülfidril Grubu
TAK	: Total Antioksidan Kapasite
TOK	: Total Oksidan Kapasite
TSA	: Total Sialik Asit
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

GRAFİKLER DİZİNİ

	Sayfa No
Grafik 2.1. TSA Standart Grafiği	53
Grafik 3.1. Gruplar Arası Ludolph Hareket Analizi Skalası Değişimleri	55
Grafik 3.2. Gruplar Arası Motor Aktivite Değişimleri	56
Grafik 3.3 Deney Grupları Plazma TAK Sonuçları	59
Grafik 3.4. Deney Grupları Beyin TAK Sonuçları	60
Grafik 3.5. Deney Grupları Plazma TOK Sonuçları	61
Grafik 3.6. Deney Grupları Beyin TOK Sonuçları	62
Grafik 3.7. Deney Grupları Plazma PON1 Sonuçları	63
Grafik 3.8. Deney Grupları Beyin PON1 Sonuçları	63
Grafik 3.9. Deney Grupları Plazma Lipid Profili Sonuçları	66
Grafik 3.10. Deney Grupları Plazma TSA Sonuçları	67
Grafik 3.11. Deney Grupları Beyin TSA Sonuçları	67

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1.1. Reaktif Oksijen Türleri	21
Tablo 1.2. Biyolojik Sistemlerde Antioksidan Savunma Sistemi	22
Tablo 2.1. Ludolph Hareket Analizi Skalası	47
Tablo 2.2. Total Antioksidan Kapasite Analizi	48
Tablo 2.3. Total Oksidan Kapasite Analizi	50
Tablo 3.1. Plazma ve Beyin Biyokimyasal Parametre Sonuçları	57
Tablo 3.2. Plazma Biyokimyasal Parametreler Arası Korelasyonlar	58
Tablo 3.3. Beyin Biyokimyasal Parametreler Arası Korelasyonlar	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Organofosfatların Genel Formülü	3
Şekil 1.2. Klorprifosun Kimyasal Yapısı	6
Şekil 1.3. Klorprifosun Metabolizması	7
Şekil 1.4. İnsan Beyninde Dopaminerjik Yollar	11
Şekil 1.5. Dopamin Metabolizması	12
Şekil 1.6. Parkinson Hastalığı'nın Nöropatolojisi	15
Şekil 1.7. Parkinson Hastalığı'nda Nörodejenerasyon Mekanizması	17
Şekil 1.8. Nörotoksinlerin Etki Mekanizması	20
Şekil 1.9. Paraoksonaz Enziminin yapısı	27
Şekil 1.10. PON1'in Üç Boyutlu Yapısı	27
Şekil 1.11. Paraoksonun Enzimatik Hidrolizi	30
Şekil 1.12. İnsektisitlerde Yaygın Kullanılan Okson Metabolitlerinin Hidrolizi	31
Şekil 1.13. Sinir Gazlarının Hidrolizi	31
Şekil 1.14. Paraoksonaz Enziminin Hücreden HDL'ye Transferi	36
Şekil 1.15. CAPE'nin Kimyasal Yapısı	39
Şekil 1.16. Sialik Asitin Kimyasal Yapısı	41

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa No
Resim 3.1. Kontrol Grubu Farelerin Beyin Substantia Nigra Bölgesinde Nöronların Görünümü	68
Resim 3.2. CPF Grubu Farelerin Beyin Substantia Nigra Bölgesinde Nöron Dejenerasyonu ve Lewy Body Cisimcikleri	69
Resim 3.3. CAPE Grubu Farelerin Beyin Substantia Nigra Bölgesinde Nöronların Görünümü	69
Resim 3.4. CPF+CAPE Grubu Farelerin Beyin Substantia Nigra Bölgesinde Dejeneratif Nöronların Görünümü	70
Resim 3.5. Etanol Grubu Farelerin Beyin Substantia Nigra Bölgesinde Nöronların Görünümü	70

ÖNSÖZ

Dünya nüfusunun hızla artmasına bağlı olarak gıda ihtiyacı her geçen gün daha da artmaktadır. Artan gıda ihtiyacının karşılanabilmesi için tarım alanından elde edilen ürünlerin veriminin yüksek ve daha iyi korunur olması gerekmektedir. Modern tarımda son 50 yıl içerisinde çeşitli hastalık ve zararlılara karşı kimyasal ilaçların kullanımının kolay, pratik ve etkili olmasına bağlı olarak pestisitlerin kullanımının arttığı görülmektedir.

Pestisitler, bitki ve hayvanlardaki herhangi bir zararlıının kontrolünde ya da bu zararlıının hayvan ve bitkilere verebileceği zararın önlenmesinde kullanılan maddelerin karışımıdır. Günümüzde 1000'den fazla aktif maddenin karışımı ile elde edilen yaklaşık 35.000 civarında pestisit preparatı mevcuttur. Doğada kimyasal kirlenmeye neden olan pestisitler, insan sağlığını doğrudan ya da dolaylı olarak önemli ölçüde tehdit eder durumdadır.

Klorprifos-etil (CPF); bahçe, tarım ve orman zararlılarına karşı yaygın olarak kullanılan bir organofosfatlı pestisit olup, insanlar ve diğer canlıların bu maddeye maruz kalma potansiyeli oldukça yüksektir. Son yıllarda kullanımları artan nikotinoidler ve fiproniller gibi birçok organofosfatlı pestisitlerin merkezi sinir sistemi üzerine olumsuz etkilerinin olduğu bilinmektedir.

Organofosfatlıların detoksifikasyonu, yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) üzerinde yer alan paraoksonaz enzimi (PON1) tarafından gerçekleştirilmektedir. PON1, Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların teşhisinde kilit bir enzim haline gelmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, Kafeik asit fenetil ester'in (CAPE) nörodejeneratif bozuklukları önlediği ve nörolojik hastalıkların tedavi sürecine katkısı olabileceği üzerinde durulmaktadır.

Yapılan bu çalışmada, organofosfatlı bir pestisit olan CPF ile deneysel Parkinson oluşturulan farelerde total oksidan kapasite (TOK), total antioksidan kapasite (TAK) paraoksonaz (PON1) aktivitesi, lipid profili ve total sialik asit (TSA) üzerine Kafeik asit fenetil ester'in (CAPE) koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı.

Doktora eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, karşılaştığım güçlüklerin giderilmesinde ilgi ve yardımlarını hiç bir zaman esirgemeyen ve beni hep daha da ilerilere gitmek için cesaretlendiren saygı değer danışman hocam Doç. Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN'a, değerli hocalarım Prof. Dr. Şaban MARAŞLI ile Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ayla ÖZCAN'a, Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL'e, Doç. Dr. Emine ATAKİŞİ, Yrd. Doç. Dr. Metin ÖĞÜN ve Yrd. Doç. Dr. Oğuz MERHAN'a, istatistiksel hesaplamalarda yardımını gördüğüm Doç. Dr. Asım KART'a, doku örneklerinin incelenmesinde ve değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Musa KARAMAN ve Yrd. Doç. Dr. Hacer Ece ÖZCAN'a, çalışmanın farklı safhalarında yardımlarını gördüğüm Araş. Gör. İnan KAYA ve Araş. Gör. Abdülsamet KÜKÜRT'e, Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı'na, yaşamımın her döneminde manevi desteklerini esirgemeyen ve hep yanımda hissettiğim ailemin tüm bireyelerine ve "bu çalışmada katkı var" diyen herkese teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

1.1. Pestisitler

1.1.1. Tanım ve Sınıflandırma

‘Pest’ adı verilen zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasal ve biyolojik maddeler olan pestisitler, veteriner hekimlikte ve tarımsal mücadelede iç ve dış parazitlere karşı koruyucu amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır (56). Pestisitler genellikle daha fazla ürün elde etmek amacı ile tarım ürünlerine zarar veren böceklerin ve hastalık etkeni olan çeşitli vektörlerin kontrolünde sıkça kullanılan maddelerdir (2).

Havadan çok düşük miktarlarda uygulanan pestisitler, sulara ve topraklara oradan da bitki ve hayvanlara geçerek besin zincirine ulaşabilmektedir. Sudaki büyük canlıların daha küçük canlıları yemesi ve kalıntı içeren maddeleri hayvanların yemesi ile bunlarda oluşan birikim, besin zincirinin son halkasında bulunan insanda kalıntı düzeyi çok daha yüksek ve yoğunlaşmış olarak ortaya çıkar. Doğada görülen bu kalıntının gıda zincirinde ve canlılarda giderek artması olayına *biyokonsantrasyon* denir (31, 97).

Pestisitlerin insan ve hayvanlara zararlı etkileri iki şekilde olmaktadır. Birincisi; doğrudan doğruya pestisitlerin vücuda alınması ile oluşan akut zehirlenmeler, ikincisi; pestisit üretimi ve uygulama alanındaki çalışmalara bağlı olarak ya da gıdalardaki kalıntıların az oranlarda defalarca alımı ile ortaya çıkan kronik zehirlenmelerdir. Pestisitler vücuda alındığında enzimlerin etkisi ile metabolize edilerek dışarıya atılmaktadır. Ancak belirli bir kısmı da birikerek kronik zehirlenmeleri oluşturmaktadır (20, 97).

Pestisitler, hedefledikleri türlere göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır (108).

- a) İnsektisit : Böcek öldürücü
- b) Akarisit : Akarları öldürücü
- c) Nemasit : Nematod öldürücü
- d) Mollusit : Yumuşakça öldürücü
- e) Rodentisit : Kemirgen öldürücü
- f) Avisit : Kuş öldürücü
- g) Afisit : Yaprak biti öldürücü
- h) Fungusit : Mantar öldürücü
- i) Bakterisit : Bakteri öldürücü
- j) Herbisit : Yabancı ot öldürücü
- k) Algisit : Alg öldürücü

1.1.2. İnsektisitler

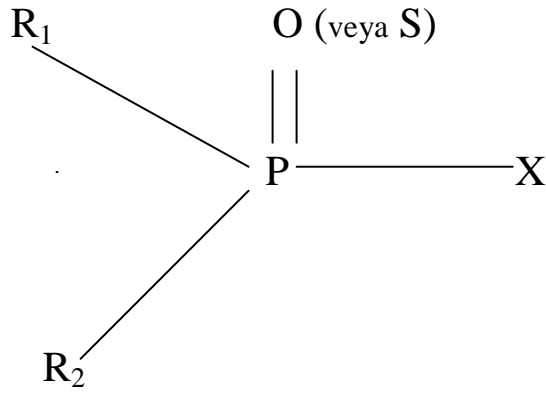
Pestisitlerin hedef olarak uygulandıkları türler arasında en önemlilerinden biri de böceklerdir. İstenmeyen böceklerin yok edilmesini sağlayarak tarım ürünlerinin korunmasına yarayan insektisitler, hastalık yapıcı vektörlerin kontrolünü de sağlayarak gerek çevre, gerekse halk sağlığı bakımından oldukça faydalı olmaktadır (94).

Zararlı böceklerle mücadelede 4 temel insektisit grubu yaygın olarak kullanılmakta olup, bunlar kimyasal yapılarına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır (108).

- (a) Organoklorinli (Organik Klorlu) İnsektisitler: Diklorodifeniltrikloretan (DDT), Dieldrin, Aldrin.
- (b) Piretroid İnsektisitler: Deltameltrin, Spermetrin, Permetrin.
- (c) Karbamatlı İnsektisitler: Karbaril, Karbofuran, Karbosulfan.
- (d) Organofosfatlı (Organofosforlu) İnsektisitler: Klorprifos, Parathion, Diklorvas,

1.1.2.1. Organofosfatlı (Organofosforlu) İsektisitler

Organofosfatlı insektisitler en çok kullanılan pestisit grubu olup, pestisitlerin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Günümüzde yaklaşık olarak 200'ün üzerinde organofosfatlı insektisit bulunmaktadır. Organofosfatlı insektisitler; fosforik, fosfonik, fosforotioik ve fosfonotioik asitlerin ester, amid ve tiyol türevleridir. Genel formülleri Şekil 1.1'de verilmiştir (176).



Şekil 1.1. Organofosfatların genel formülü (176).

Organofosfatlı insektisitlerin önemli bir kısmı, Almanya'da Gerald Schrader önderliğinde bir grup kimyager tarafından sentezlenmiştir. Bu maddelerin son derece toksik olduğu anlaşılmış ve bunların bir kısmı II. Dünya Savaşında Nazilerin kontrolünde kimyasal savaş silahı olarak kullanılmıştır. Etkin kimyasal silah olan ve sinir gazı olarak nitelendirilen tabun ve sarin'in sentezi sır olarak saklanmıştır. Sinir gazı adı verilen bu tür organofosfatlı bileşiklerin memelilere toksik olduğu anlaşıldıktan sonra insektisit özelliğinin de olduğu anlaşılmış ve bu amaçla tetraetil pirofosfat (TEPP) sentezlenmiştir. Gerald Schrader 1944 yılında daha dayanıklı bir bileşik olan parathion ve oksijen analogu paraoksonu sentezlemiştir. II. Dünya savaşından sonra da organik yapıdaki pestisitlerin üretimi ve kullanımı önemli ölçüde artmıştır (172).

1.1.2.1.1. Organofosfatlı İsektisitlerin Etki Mekanizması ve Detoksifikasyonu

Organofosfatlı insektisitlerin etki mekanizması asetilkolinesteraz enziminin (AChE) inhibisyonuna dayanmaktadır. Asetilkolinesteraz; asetilkolini, kolin ve asetik asite parçalayan nörotransmitter olup merkezi ve periferik sinir sisteminde, nöromüsküler kavşaklarda ve eritrositlerde bulunmaktadır. Kolinerjik sinir kavşaklarında asetilkolin miktarının artması, düz kasların kasılmasına ve salgı bezlerinin salgı yapmasına sebep olmaktadır. Merkezi sinir sisteminde yüksek miktarda biriken asetilkolin duyuşsal ve davranışsal bozukluklara, motor fonksiyonların baskılanmasına ve solunum yetmezliğine yol açmaktadır (45).

Birçok organofosfatlı pestisitinin yapısında fosfora çift bağılı sülfür atomu yer almaktadır. Organofosfatların toksik hale gelmeleri için metabolik aktivasyon ile oksonlara dönüşmeleri, yani yapılarındaki P=S grubunun P=O grubuna dönüşmesi gerekmektedir. Çünkü yalnızca yapısında P=O grubu bulunan organofosfatlı bileşikler asetilkolinesterazı baskılayabilmektedir. Oksidatif desülfürasyon adı verilen ve karaciğerde mikrozomal sitokrom P450 enzimleri tarafından katalizlenen bu biyotransformasyon reaksiyonu sonucunda organofosfatlı pestisitler toksik hale gelmektedir (39).

Organofosfatların toksisitesi, asetilkolinesterazın inhibisyonundan dolayı asetilkolinin birikmesinden kaynaklandığı için asetilkolinin fazlalığı, kolinerjik reseptörler ile asetilkolinin etkileşimine bağılı olarak başlayan olayları olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durum, merkezi ve periferik sinir sisteminde nöronal geçişin bozulmasına neden olmaktadır (83, 95). Bunun yanı sıra organofosfatlar, merkezi sinir sisteminde öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını da içeren birçok nöropatolojik oluşumlara yol açmaktadırlar. Çünkü bu kimyasalların hedefi, korteks ve hipokampüsteki sinirsel uyarılabilirliğin ana düzenleyicisi olan GABAerjik ve kolinerjik sistemlerdir (30).

Organofosfatların biyolojik etkilerini beynin ve diğere dokuların hücreşel bileşenlerine özellikle elektrofilik saldırı yaparak gösterdiği öne sürölmektedir (152).

Bu tür olaylar özellikle lipid içeriği ve oksijen gereksinimi yüksek, nöronal hücreleri yenilenemeyen beyinde olumsuz sonuçlara neden olabilmektedir (97). Organofosfatlı insektisitler motor fonksiyonları olumsuz yönde etkilemekte ve bu maddelere maruz kalma ile Parkinson hastalığı arasında bir ilişki olduğu bildirilmektedir (46, 122, 139). Parkinson hastalığında olduğu gibi kolinesteraz aktivitesinin inhibisyonu ile motor fonksiyonların görevini yapamadığı için Parkinson semptomları şiddetli olmaktadır (27, 131).

Organofosfatların detoksifikasyonu, plazmada paraoksonaz (PON1) gibi A-esterazlar tarafından katalizlenen hidroliz reaksiyonu ve asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz ve karboksilesteraz gibi B-esterazlara stokiometrik bağlanma reaksiyonları içermektedir (63).

1.1.3. Klorprifos-Etil

Kimyasal ismi: O,O-diethyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate

Ampirik formül: C₉ H₁₁ Cl₃ NO₃ PS

Molekül ağırlığı: 350.57

CAS Numarası: 2921-88-2

Erime noktası: 41 – 42 °C

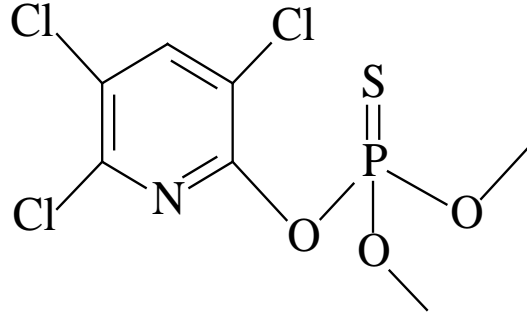
Buhar basıncı: 2.5 mPa 25 °C

Suda çözünürlüğü: 2 mg/L 25 °C

Dermal LD₅₀: Rat (erkek) 202 mg/kg, Rat(dişi) 135 mg/kg

Diğer solventlerde çözünürlüğü: Benzen, aseton, kloroform, karbon disulfid, dietil eter, ksilene, metilen klorid, metanol, etanol.

Diğer isimleri: Brodan, Detmol UA, Dowco 179, Dursban, Empire, Eradeks, Lorsban, Paqant, Stipend, Priban 4, Pridane, Prinex (52, 176).



Şekil 1.2. Klorprifosun kimyasal formülü (52).

Kapalı formülü $C_9 H_{11} Cl_{13} NO_3 PS$ ve kimyasal adı O,O-diethyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate olan CPF'nin böcek öldürücü etkisi ilk defa 1965 yılında anlaşılmış ve daha sonra yaygın bir şekilde kullanılmaya devam edilmiştir. Beyaz kristaller halindeki bileşik, kuvvetli alkalilerde hidrolize olmakta, nötr veya hafif asit ortamda uzun süre bozulmamaktadır. Temas, mide zehiri ve gaz etkili bir insektisit olup, penetrasyon yeteneği iyidir. Zehirlilik sınıfı II'dir (52, 176).

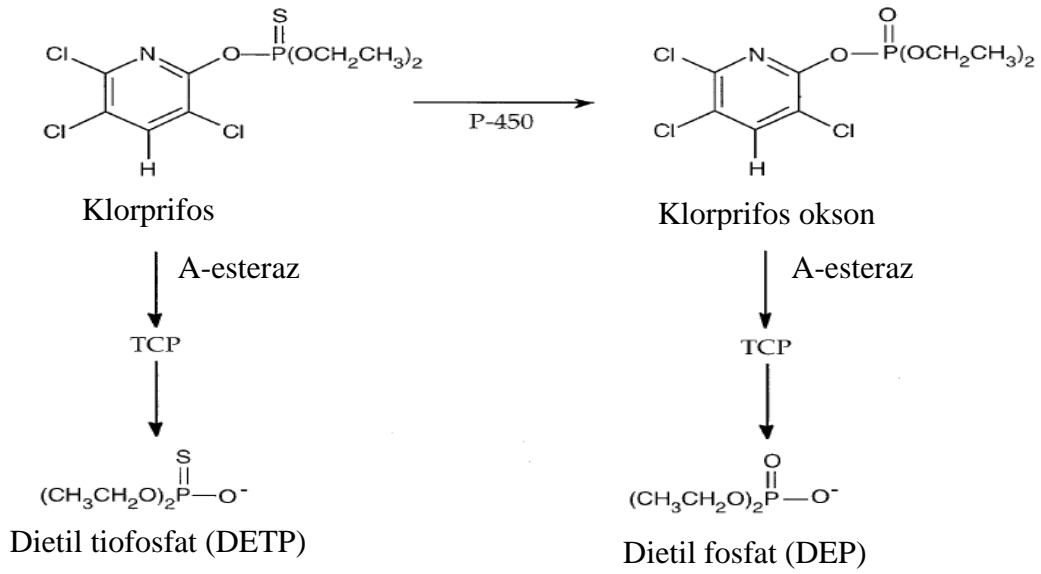
Başlangıçta immatür gelişimin larval evresinde sivrisinekleri öldürmek için kullanılmış olan CPF, hamam böceği, karınca, bit, pire, larva ve termitleri de içeren birçok değişik böceklerin kontrolünde etkilidir. CPF tohum, pamuk, çayır, meyve, fındık, sebze ve ekinlerde insektisit olarak kullanılmaktadır (52).

Klorprifosun bir insektisit olarak önemi; yüksek biyolojik aktivitesi ve kısa yarı ömründen kaynaklanmaktadır. Diğer organik fosfatlarda olduğu gibi, etkinin temel prensibi asetilkolinesterazın fosforilasyonu ve bunu takip eden inaktivasyonudur (97).

1.1.3.1. Klorprifosun Metabolizması ve Eliminasyonu

Klorprifosun da yer aldığı fosforotionat esterleri (P=S bağı içerirler) karışık fonksiyonlu oksidazlar tarafından P=O bağına sahip hale getirilirler. Bu oksidazların etkisiyle CPF'den, klorprifos-okson adı verilen bir bileşik meydana gelmektedir. Meydana gelen bu reaksiyonla, zayıf antikolinesteraz aktivitesine sahip bileşikten daha güçlü antikolinesteraz aktivitesine sahip bir bileşik meydana gelmiş olmaktadır (79, 162).

Antikolinesteraz aktivite gösteren organofosfatlar tersiyer esterler olup, hidrolitik parçalanmaya hassastırlar. Klorprifos-oksonu A-esterazlar ve B-esterazlar parçalamaktadır. Klorprifos-okson; pseudokolinesteraz, karboksilesteraz gibi B-esterazları inhibe edebilir. Bu enzimlere bağlanan ilaç artık asetilkolinesterazı inhibe edememektedir. Dolayısıyla antikolinesteraz bileşikleri için bir detoksifikasyon yolu sağlanmış olmaktadır (162).



Şekil 1.3. Klorprifosun metabolizması (52).

Klorprifosun metabolizması sonucu ortaya çıkan ürünler vücuttan idrarla, daha az olarak dışkıyla atılmaktadır. Metabolizma sonucu vücuttan atılım; 3,5,6-trikloro-2-piridil fosfat, 3,5,6-trikloro-2-piridinol ve değişikliğe uğramamış CPF şeklindedir (52).

1.1.3.2. Klorprifosun Nörotoksitesi ve Oksidatif Hasar

Klorprifos toksisitesinde esas mekanizma, klorprifos-okson tarafından sinir kavşaklarındaki Asetilkolinesteraz'ın (AChE) aktif bölgesinde bulunan serin hidroksimetil biriminin fosforillenmesidir. Asetillenmiş enzim hızlı bir şekilde asetik asit ve koline parçalanırken, fosforillenmiş enzim ise yüksek derecede stabildir.

Hatta bazı olgularda fosfor atomuna eklenen gruplara bağlı olarak irreversibl olarak inhibe edilmektedir. Serin'in hidroksil grubu fosforil birimi ile bloke edildiğinde artık enzim asetilkolin'i (ACh) hidrolize edemez (69). Son yıllarda geręekleřtirilen çalışmalarda, bazı organofosfatlı insektisitlerinin AChE inhibisyonu yanı sıra reaktif oksijen turlerinin (ROT) üretimini de arttırdıkları ve böylece oksidatif doku hasarına neden oldukları gösterilmiştir (51).

Organofosfatlı pestisitler lipofilik olduklarından dolayı, lipid oranı yüksek organ ve dokularda birikme eğilimindedirler (161). Nitekim Hunter ve ark. (86)'ları, CPF metabolitlerinin beyinde karaciğere göre beş kat daha fazla biriktiğini göstermişlerdir. Dolayısıyla sinir sistemi CPF toksisitesine yüksek oranda maruz kalacaktır (87, 162). Merkezi sinir sistemi, vücuttaki diğer sistemlere ve organlara nazaran oksidatif hasara daha duyarlıdır. Bunun olası nedenleri řu şekilde özetlenmektedir (162).

- a) Beyin, vücut oksijeninin % 20'sini kullanır. Oksijen ürünleri toksik olduklarından dolayı nöronal dokular diğer organ ve dokulara kıyasla oksidatif hasara daha açıktır.
- b) Beyinde oksidatif metabolik aktivite hızı yüksektir.
- c) Önemli antioksidan enzim seviyelerinin beyinde düşük olması nedeniyle beyin oksidatif hasara karşı koyma yeteneği sınırlıdır.
- d) Nöronal membran fosfolipidleri, kolayca okside olabilen linoleik asit ve araşidonik asit gibi poliansatüre yağ asitlerini yüksek konsantrasyonlarda içermektedir.

İnsanlar için nöroteratojenik etkilerinin olduğu bilinen CPF'nin, deneysel hayvan modellerinde beyin hücre gelişimi ve organogeneziste uygulanması nöron kaybı ve sonuçta sinaps oluşumu ile sinaptik aktivitede anormalliklere sebep olduğu bildirilmektedir. Zira bilişsel fonksiyon için kolinerjik yollar çok önemlidir (15, 155).

Yapılan bazı çalışmalarda, CPF'nin akut ve tekrarlayan düşük dozlarda uygulanması bazı nörodavranış değişimlerini indüklediği bildirilmektedir (8, 10). Nöronal gelişimin olduğu çocukluk dönemi, organofosfatlı pestisit nörotoksitesi açısından son derece önemlidir. Benzer şekilde CPF'nin, çocuklarda mental ve davranış sağlığı bozukluğuna neden olan gelişimsel bir nörotoksik ajan olduğu bildirilmektedir (112, 155). Yapılan bir çalışmada, CPF'nin erişkin sıçanlarda kısa süreli hafızada, doza bağlı olan ve uzun dönemde sonlanan bozukluklara sebep olduğu bildirilmiştir (159).

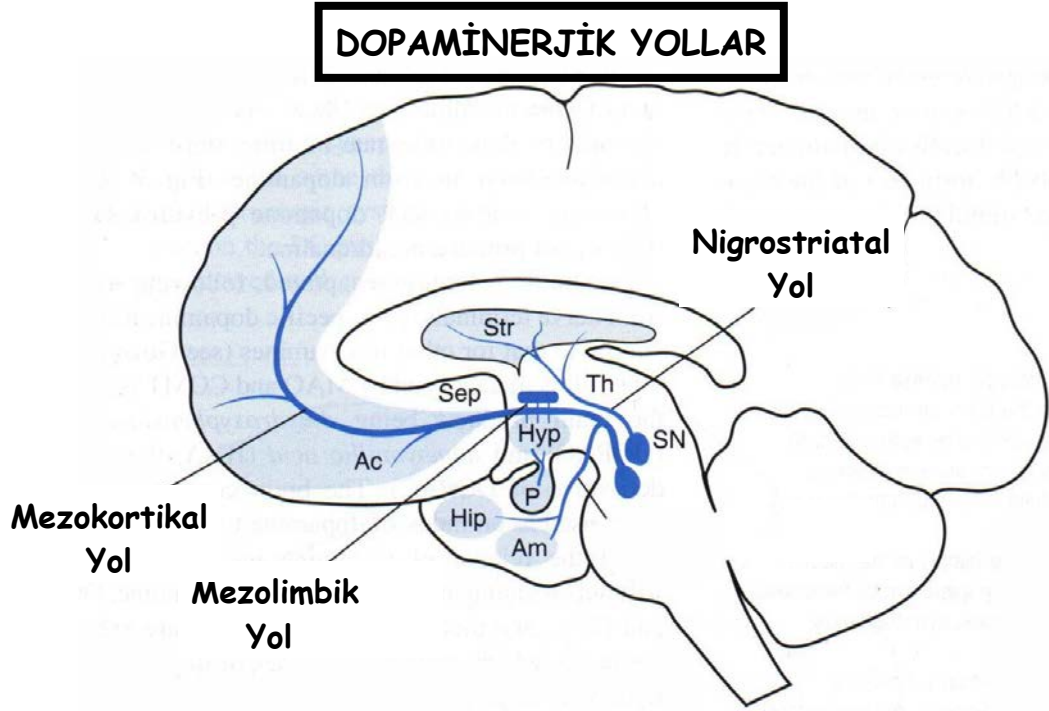
Klorprifos maruziyeti ile Parkinson Hastalığı (PH), hafıza kaybı ve nörolojik gelişim bozukluğu arasında bir ilişki olduğu ve bu bozuklukların her üçünün de dopaminerjik nöron sayılarındaki azalmaya bağlı olarak gelişebileceği bildirilmektedir (46, 139). Bir vaka çalışmasında, organofosfat zehirlenmesiyle hastanelere başvuran hastaların bir kısmında ilerleyen dönemde lokal distonilere rastlanmış, bunların bazılarında tipik parkinsonizm bulguları saptanmıştır (95). Benzer şekilde, CPF veya CPF ailesi organofosfatlara maruziyet ile PH'nın artma riski arasında bir ilişki olduğunu gösteren değişik epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur (47, 122).

1.2. Parkinson Hastalığı

Parkinson Hastalığı (PH), ilk kez İngiliz bilim adamı James Parkinson tarafından 1817 yılında titrek felç (shaking palsy) adıyla tanımlanmış olup titrek felç terimi, titremenin görüldüğü basit felç ya da felce ait olmayan anormal durumları tanımlamak için kullanılmaktadır (47). PH başta substantia nigra olmak üzere bazal ganglion dejenerasyonuna bağlı motor davranışlarda bozuklukların gözlemlendiği klinik bir durumdur. PH beyinde substantia nigra pars compacta'dan corpus striatum kadar uzanan dopaminerjik nöronların kaybına bağlı olarak dopamin miktarının azalması ile karakterize edilir (41, 143). Parkinson Hastalığı, motor hareket bozukluğu ile seyreden hastalıklar arasında en sık görülen, kronik ve ilerleyici nitelikli nörodejeneratif bir hastalıktır. Bu hastalıkta kas etkinliğinde azalma ile birlikte istemsiz titrek hareketlerin oluştuğu, gövdenin öne doğru büküldüğü ve hastanın yürür adımdan koşar adıma geçmeye eğiliminin arttığı bildirilmektedir (41).

1.2.1. Parkinson Hastalığı ve Dopaminerjik Sistem İlişkisi

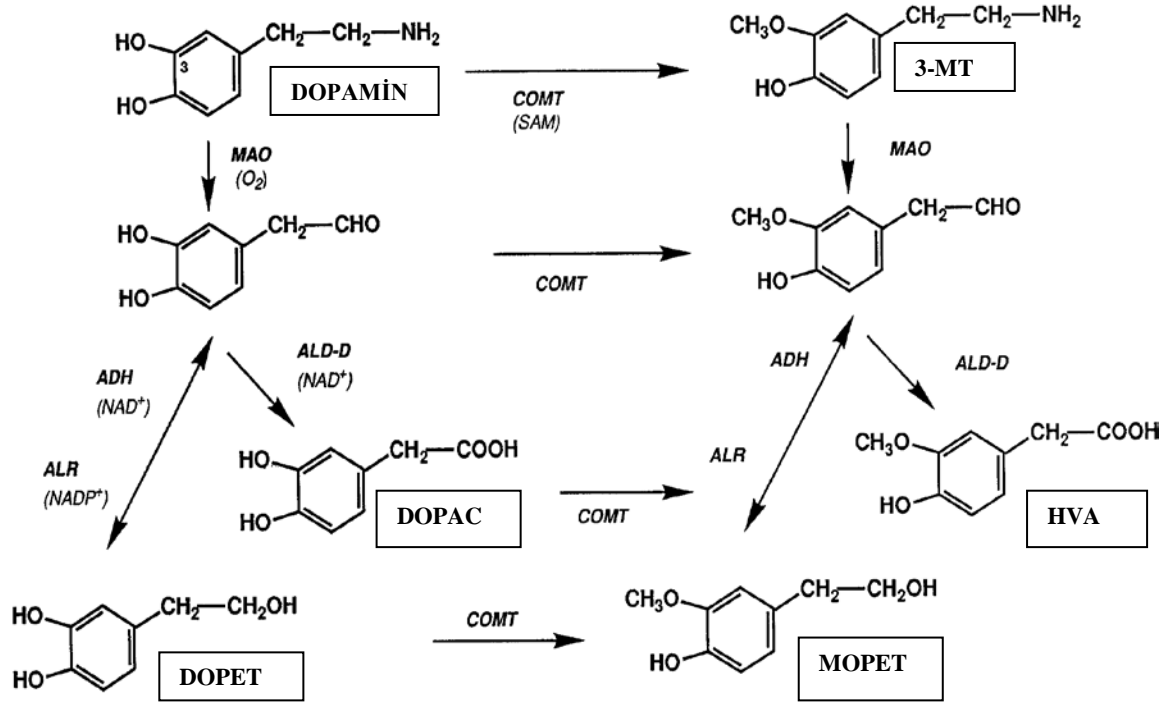
Dopamin (DA), vücutta adrenalin ve noradrenalin biyosentezi sırasında açığa çıkan bir ara ürün olup, beyin sapının üst kısımlarında nörotransmitter olarak görev yapan bir katekolamindir. Katekolaminler, tirozin aminoasitinden sentez edilmektedir. DA'nın başlıca kaynağı olan dopaminerjik nöronlar, diensefalon, mezensefalon ve olfaktori bulb'da lokalize olmuşlardır. Beynin toplam dopaminerjik hücre sayısının % 90'ını, mezensefalonda bulunan dopaminerjik nöronlar oluşturmaktadır. Mezensefalik dopaminerjik sistem, nigrostriatal, mezolimbik ve mezokortikal dopaminerjik sistem olmak üzere üçe ayrılmaktadır (153).



Şekil 1.4. İnsan beyinde dopaminerjik yollar (153).

Dopaminerjik nöronlar; motor davranış, motivasyon ve hafızada etkin rol oynadığından, dopamin düzenlenmesi hem mental hem de fiziksel sağlıkta önemlidir. Dopaminerjik hücre kaybı ile ilişkilendirilen en önemli nörodejeneratif hastalık ise PH'dır (153).

PH'da beyin dopamin seviyesinde önemli derecede bir düşüş meydana gelmektedir. Bu düşüş hücre gövdeleri SNpc'de yerleşmiş, aksonları ve sinir terminalleri striatumda bulunan dopaminerjik nöronlardan oluşan nigrostriatal dopaminerjik yolların dejenerasyonundan kaynaklanmaktadır (47, 163).



Şekil 1.5. Dopamin metabolizması (59).

1.2.2. Parkinson Hastalığı'nın Klinik Bulguları

Parkinson Hastalığı'nda görülen temel motor bozukluklar; istirahat tremoru, hareketlerin olmaması ve yavaşlaması (Akinezi/Bradikinezi), rijidite ve hastalığın daha ileri evrelerinde ortaya çıkan postüral bozukluklar (postüral reflekslerin kaybı) olarak sıralanabilir (163).

1.2.3. Parkinson Hastalığı'nı Etkileyen Faktörler

a-Yaş: Parkinson Hastalığı, Alzheimer Hastalığı'ndan (AH) sonra gelen en yaygın nörodejeneratif hastalık olup, 60 yaş üstü populasyonun yaklaşık %1'ni etkilemektedir. İleri yaş, PH için en önemli risk faktörlerinden biridir. Hastalığın yaşlanmanın hızlanmış bir şekli olabileceği, yaşla birlikte artan nigral hücre yıpranmasının 60 yaşın üzerindekilerde giderek artan semptomların başlamasına ve ilerlemesine neden olduğu görüşleri ortaya atılmıştır (86, 138).

Erişkinler hatta çocuklar da etkilenebilse de PH genellikle 55 yaşın üzerindeki insanlarda görülmektedir (11). 20 yaşından önce başlayan olgular 'Jüvenil Parkinson' olarak tanımlanmakta ve genellikle kalıtsal olan Jüvenil Parkinsonizm'de farklı bir nigral dejenerasyon görülmektedir (144).

b-Cinsiyet: Çalışmaların çoğunda, PH'nın prevalansı erkek ve kadınlar arasında önemli bir farklılık göstermemektedir. Ancak aynı yaş grubundaki kadın ve erkekler karşılaştırıldığında, erkeklerde hastalığa yakalanma riskinin 1,5 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (177).

c-Genetik Faktörler: Birçok çalışma ile Parkinson hastalarının birinci derece akrabalarında PH gelişme riskinin 2-3 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Özellikle vaka kontrol çalışmalarında Parkinson sıklığının yakın akrabalarında PH olanlarda olmayanlara göre daha fazla olması hastalığın genetik yatkınlıkla ilgili olabileceğini düşündürmektedir (132, 170).

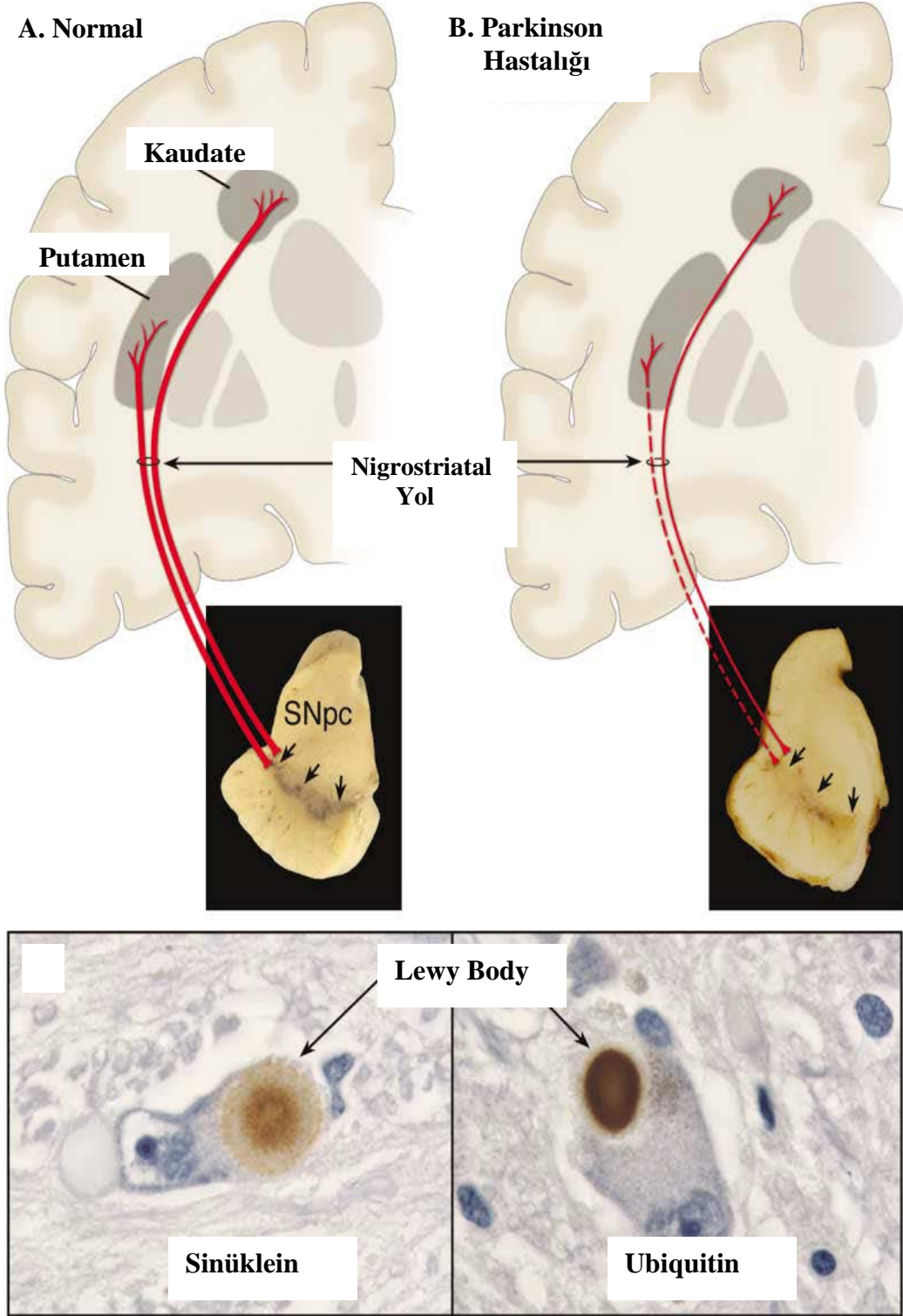
d-Çevresel Faktörler: Birçok çalışma PH'da çevresel faktörlerin rol oynadığını ortaya koymaktadır. Çalışmalar aralarında pestisitlerin de bulunduğu birçok maddenin nigrostriatal yolda dopaminerjik hücrelerin selektif hasarına neden olduğu kaydedilmektedir (151). Kırsal yaşamın özellikle erken başlangıçlı Parkinson riskini artırdığı bildirilmekte ve kırsal yaşamın yanı sıra kuyu suyu kullanımı, endüstriyel bileşiklere maruziyet ve tarım endüstrisinde çalışanlarda pestisit ve herbisitlere maruz kalmanın PH gelişme riskini artırdığı bildirilmektedir (18, 151).

Nikotinoidler ve fiproniller gibi, yeni kullanıma giren pek çok pestisit merkezi sinir sistemi etkileri olduğu ve pestisit maruziyetine bağlı olarak gelişen kronik sinir sistemi hasarının en sık görülen şeklinin PH olduğu bildirilmektedir (99). Sıçanlar üzerinde lipofilik özelliğe sahip pestisitlerden rotenon maruziyeti sonucu mitokondrial kompleks-I'in inhibe olduğu, pestisit maruziyetinin PH'nın nörokimyasal, anatomik, davranışsal ve nöropatolojik belirtilerinin gelişiminde etkili olduğu ifade edilmektedir (19).

1.2.4. Parkinson Hastalığı'nın Nörokimyasal ve Nöropatolojik Özellikleri

Parkinson Hastalığı'nın patolojik belirteçlerinin en önemlisi nigrostriatal dopaminerjik nöronların %50-70 oranında kaybıdır. Hücre gövdeleri SNpc'den putamene uzanan bu nöronlar nöromelanin (NM) içermektedir (41). Semptomların başlangıcında SNpc dopaminerjik nöronların %60'ı kaybedilirken putamende bu oranın %80'e vardığı görülmektedir. Bunun sonucunda SNpc'de olduğu kadar striatumda da dopamin (% 80) ve onun metabolitleri olan homovanilik asit (HVA) ile 3,4-dihidroksi fenil asetik asitin (DOPAC), DA'nın biyosentetik enzimi tirozin hidroksilazın (TH) ve dopamin taşıyıcısının (DAT) azaldığı tespit edilmiştir (41, 49).

PH ile ilişkili dopaminerjik nöron kaybının, normal yaşlanmada görülen modelden farklı olarak karakteristik bir topolojisi vardır. PH'da normal yaşlanmaya göre nöron kaybının hızı ve yoğunluğu daha fazladır. Normal yaşlanma sırasında SNpc'nin dorsomedial yanı etkilenirken, PH'da hücre kaybı SNpc'nin ventrolateral ve kaudal bölgelerinde yoğunlaşmaktadır (41, 65).



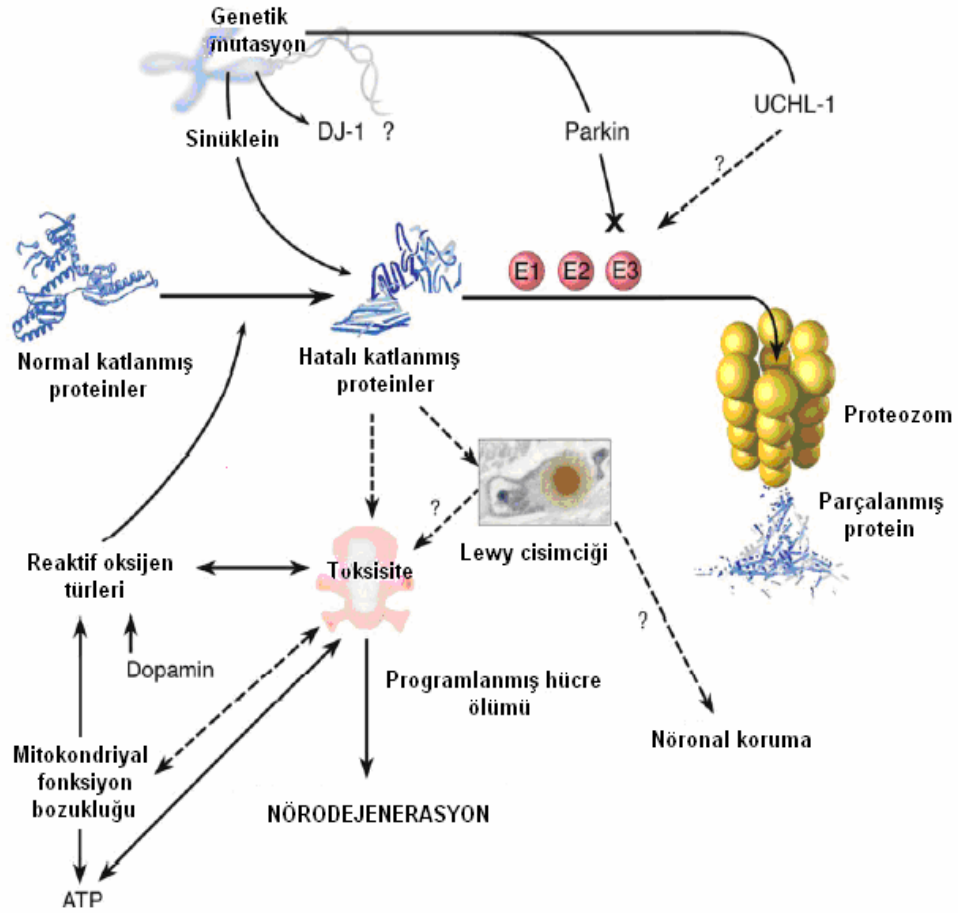
Şekil 1.6. Parkinson Hastalığı'nın nöropatolojisi (41).

PH'nın ikinci patolojik belirtici olan Lewy Body (LB) cisimciklerinin varlığı ilk kez 1912 yılında F.H. Lewy tarafından Parkinson hastalarının beyin sapında, SN'nin NM içeren nöronlarının stoplazmasında tanımlanmıştır. LB'lerin yapısında α -sinüklein, parkin, ubiquitin gibi çeşitli proteinler ve nörofilamentler bulunmaktadır. LB'ler 15 μ m'den daha büyük çapa, yoğun hiyalin çekirdeğe ve bunun etrafında net bir ışık halkasına sahiptir (41, 134).

PH'nın patolojisi yaygın olarak dopaminerjik nöron kaybı olarak düşünülse de nörodejenerasyon dopaminerjik nöron sınırlarının dışına çıkmaktadır. Nörodejenerasyon ve LB oluşumu, serebral korteks, olfaktör bulb ve otonom sinir sisteminde olduğu kadar noradrenerjik, serotonerjik ve kolinerjik sistemlerde de görülmektedir. Özellikle yaşlı PH hastalarında görülen demansın nedeni hipokampusun dejenerasyonu ve kolinerjik sistemin etkilenmesidir. Ancak serotonerjik ve noradrenerjik yollardaki lezyonlar, dopaminerjik nöronlardakiler kadar kesin karakterize edilememiştir. Bu sistemlerin katılımının hastalığın daha şiddetli veya daha geç evrelerinde olduğu düşünülmektedir (1, 41).

1.2.5. Parkinson Hastalığı'nın Patogenezi

Parkinson Hastalığı'nın patogeneziyle ilgili olarak iki ana hipotez öne sürülmektedir. Hipotezlerden birinde SNpc dopaminerjik nöron ölümüne proteinlerin hatalı katlanması ve agregasyonunun neden olduğu ileri sürülürken, diğerinde ise mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun yanı sıra DA'nın oksitlenmesini kapsayan oksidatif stresin sorumlu olduğuna dikkat çekilmektedir (41). Ayrıca eksitotoksisite, nöroinflamasyon ve apoptoz gibi zararlı faktörler kaskadının birbirleriyle etkileşerek patogeneizde yer aldığı düşünülmektedir (138, 163).



Şekil 1.7. Parkinson Hastalığı'nda nörodejenerasyon mekanizması (41).

A. Proteinlerin Hatalı Katlanması ve Agregasyonu

Parkinson Hastalığı'nı da içine alan pek çok yaşla ilişkili nörodejeneratif hastalıkta beyin dokusu proteinlerinde anormal dağılım gözlenmektedir. Protein agregatlarının kompozisyonu ve yerleşimi farklı hastalıklarda farklılık gösterse de bu değişimin nöronlar için toksik olduğu bildirilmektedir (41).

Proteozomal fonksiyon eksikliği ve bunun sonucunda hatalı katlanmış proteinlerin yığılması tehlikeli bir döngüye sebep olmaktadır. Protein agregatları, hücrenin yapısını bozarak ya da nöronlarda iletişimi engelleyerek direkt hasara neden olabilir. Protein inklüzyonları, hücre canlılığı için önemli olan proteinleri işlevsiz duruma getirebileceğinden inklüzyon oluşumu ile nörodejenerasyon arasında bir korelasyon olabileceği kaydedilmektedir (41).

Sporadik Parkinson Hastalığı'nda proteinlerin fonksiyon eksikliğini tetikleyen faktörlerin bir kısmı aydınlatılmıştır. PH patogeneğinde anahtar rol oynadığı uzun zamandır düşünülen oksidatif hasar bu mekanizmalardan biridir. Oksitlenmiş proteinlerin doku içerikleri yaşla birlikte artmakta ve nöronlar postmitotik oldukları için bu artışa karşı özellikle hassas olabilirler (137). Yapılan *in vitro* çalışmalarda LB'lerin normal α -sinükleinlere oranla oksidatif olmaya meyilli α -sinükleinleri içerdikleri gösterilmiştir. Herbisit ve pestisitlerin α -sinükleinin hatalı katlanması ve yığılmasını indüklediği kaydedilmiştir (41, 167).

B. Mitokondriyal Fonksiyon Bozukluğu ve Oksidatif Stres

Aerobik organizmalardaki biyokimyasal tepkimelerde, oksijenin kullanılmasıyla metabolizmada sürekli bir oksidan madde üretimi olduğundan, bunun belirli bir dengede bulunması gerekmektedir. Denge ancak fazla miktardaki oksidanın, antioksidan adı verilen oksidan temizleyici maddelerce etkisizleştirilmesi ile sağlanır. Oksidan ve antioksidanlar arasındaki denge, hücrel ve biyolojik etmenlerce bozulabilmektedir (50).

Oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulmasına '*Oksidatif stres*' denir. Oksidatif stres; Alzheimer, Parkinson, diyabet, katarakt, gastrointestinal kanalın kronik enfeksiyonları ve astım gibi pek çok hastalıkta rol oynamaktadır (26).

Parkinson Hastalığı patolojisinde, mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun olası rolünü açıklayabilmek için 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) ile oluşturulmuş deneysel parkinson modelleri kullanılmıştır. Glial hücrelerce deaminizasyona uğrayan MPTP ürünü olan 1-metil-4-fenilpiridinyum (MPP⁺) iyonunun dopaminerjik sinir terminallerince alınarak buralarda biriktiği; burada hem mitokondriyal solunumu bozan serbest radikallerin oluşumunu tetiklediği hem de mitokondriyal elektron transport sistemi (ETS) enzimi olan kompleks-I' i inhibe edip, enerji metabolizmasını engelleyerek nöronu ölüme götürdüğü bildirilmektedir (23, 62).

Apoptozun başlangıcına mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun katılması nörodejenerasyonda oksidatif hasarın kritik rolünü göstermektedir (67). PH'da, mitokondriyal ETS multienzimi NADH: ubiquinon oksidoredüktaz (kompleks-I)'in aktivitesinde anomaliler tespit edilmiştir. *In vitro* çalışmalar bu kompleks-I bozukluğunun hücreleri oksidatif hasara ve enerji eksikliğine maruz bırakabileceğine işaret etmektedir (75). Kompleks I'in inhibisyonu, toksik hidroksil radikal ($\cdot\text{OH}$)'ini üretebilen veya peroksinitrit (ONOO^-)'i oluşturmak üzere NO ile tepkimeye girebilen O_2^- 'nin üretimini artırır. ETS, bu reaktif türlerin hedefi olabilir ve bu da mitokondriyal hasar ve daha fazla ROT üretimi ile sonuçlanır (36).

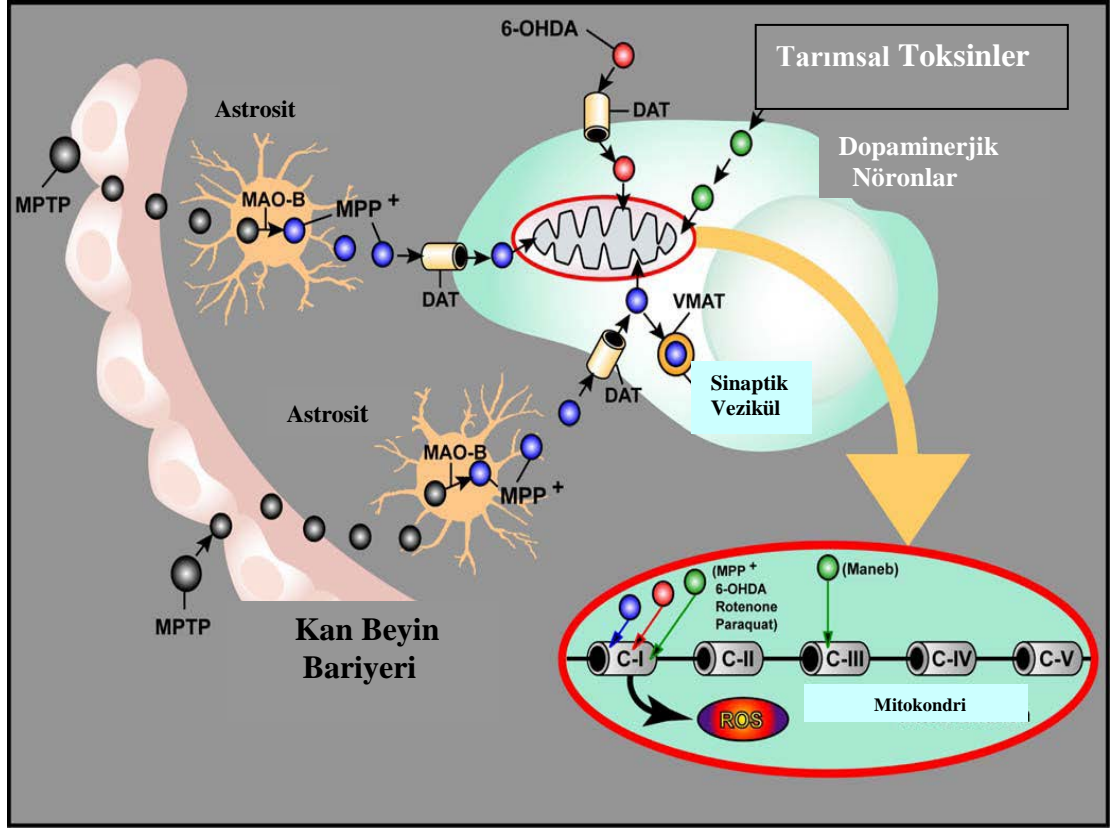
1.2.6. Deneysel Parkinson Hastalığı Oluşturma Modelleri

Deneysel PH modelleri, hastalığın aşağıdaki başlıca patolojik ve davranışsal özelliklerini taşımaktadır (41, 171).

1. Dopaminerjik nöron hasarı,
2. Striatumda dopamin düzeyinde azalma,
3. Sağlam nöronlarda Lewy cisimciklerinin görülmesi,
4. Hareketlerde yavaşlama, kaslarda sertlik ve tremor.

Dopaminerjik sistemi bozarak ya da zarar vererek PH'nın yukarıda bahsedilen özelliklerinin ortaya çıkmasına neden olan MPTP ve 6-hidroksi dopamin (6-OHDA) PH modelleri oluşturmak için ilk olarak ve en çok kullanılmış olan ajanlardır. Daha sonraları rotenon, paraquat ve maneb gibi tarım kimyasallarının da Parkinson belirtilerine neden olduğu saptanmıştır (41).

Bu tarım kimyasallarıyla elverişli Parkinson modelleri oluşturup oluşturulamayacağını aydınlatılabilmek amacıyla çalışmalar hızla devam etmektedir. Bu toksinlerin hepsinin ortak özelliği mitokondrilerdeki kompleks-I enzimini inhibe ederek dopaminerjik sisteme zarar vermeleridir (150, 171). Bu nörotoksinlerin etki mekanizmaları Şekil 1.8'de gösterilmiştir.



Şekil 1.8. Nörotoksinlerin etki mekanizması (150).

1.3. Organizmada Oksidan ve Antioksidan Durum

Canlı organizmalar için hayati öneme sahip biyokimyasal tepkimeler sırasında oksijen indirgenerek, ROT denilen ve birçok dokuda oksidatif hasara sebep olan ara metabolik ürünler meydana gelmektedir. Oksijen, aerobik canlıların yaşamlarını sürdürebilmeleri için gerekli olmasına karşın potansiyel olarak toksik bir moleküldür. ROT oluşturdukları oksidatif yıkımdan dolayı “oksidan madde” veya “serbest radikal” olarak isimlendirilmektedir. Serbest radikaller, moleküler oksijeni metabolize eden bütün canlılarda oluşmaktadır (135, 160). Organizmada oksidatif strese neden olan önemli ROT'lar aşağıda Tablo 1.1.'de verilmiştir.

Tablo 1.1. Reaktif oksijen türleri (4, 34).

RADİKALLER	NON-RADİKALLER
Süperoksit radikali (O_2^{\cdot})	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil radikali (OH^{\cdot})	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Peroksil radikali (ROO^{\cdot})	Hipokloröz asit (HOCl)
Alkoksil radikali (RO^{\cdot})	N-Halojenli aminler (R-NH-X)
Semikinon radikali (HQ^{\cdot})	Singlet oksijen (1O_2)
Nitrik oksit radikali (NO^{\cdot})	Ozon (O_3)
Organik radikaller (R^{\cdot})	Azotdioksit (NO_2)
Hemoproteine bağlı radikaller	Peroksinitrit ($ONOO^-$)

Meydana gelen serbest radikaller, canlı organizmanın spesifik enzim sistemleri [süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT)], su ve lipide çözünebilen bazı protein yapısında olmayan bileşikler (ürik asit ve a-tokoferol) gibi antioksidanlar tarafından engellenmektedir (110). Antioksidanlar küçük miktarlarda, kolayca okside olabilen maddelerin oksidasyonunu büyük ölçüde geciktiren ya da engelleyen maddeler olarak tanımlanmaktadır (115).

Antioksidanlar yapılarına göre enzim olanlar [SOD, Glutasyon peroksidaz (GPx), CAT, Glutasyon-S-transferaz (GST)] ve enzim olmayanlar [Redükte glutasyon (GSH), vitamin E, vitamin C, vitamin A, melatonin] şeklinde sınıflandırılabilirdiği gibi hücre lokalizasyonlarına göre de intrasellüler antioksidanlar (SOD, CAT, GPx), ekstrasellüler antioksidanlar (albumin, vitamin C, ürat) ve membran antioksidanları (vitamin E, vitamin A) olarak sınıflandırılabilir (4, 77).

Tablo 1.2. Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi (4, 119).

Enzimatik Antioksidanlar	Nonenzimatik Antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon (GSH)	Seruloplazmin
Katalaz (CAT)	α - Tokoferol (vit E)	Transferin
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)	Askorbik asit (vit C)	Ferritin
Glutasyon-S-Transferaz (GST)	β -Karoten	Laktoferrin
Glutasyon redüktaz (GSSG-R)	Flavonoidler	Melatonin
Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px)	Ürat	Sisten
Paraoksonaz	Bilirubin	Kafeik asit fenetil ester (CAPE)
	Albumin	

Oksidan ve antioksidan moleküllerin ölçümünde kullanılan değişik yöntemler mevcuttur. Ancak bu yöntemler uzun zaman ve emek alan, pahalı, rutin kullanımda yer alması mümkün olmayan yöntemlerdir. Bu nedenle organizmadaki oksidan/antioksidan dengenin belirlenmesi için tek tek oksidanların ve antioksidanların ölçümündense, total antioksidan kapasite (TAK) ve total oksidan kapasite (TOK) ölçümünün daha yararlı olduğu bildirilmektedir (60, 61).

Plazma ve vücut sıvılarında bulunan bütün antioksidanların toplam etkisi, TAK'ı yansıtmaktadır. Total antioksidan kapasite; total antioksidan aktivite, total antioksidan güç ve total antioksidan durum gibi farklı isimler de almaktadır (60, 105). Plazmada antioksidanların bir kısmının bir arada etki etmesi sonucu her birinin tek başına oluşturduğundan daha fazla antioksidan etki ortaya çıkmaktadır (sinerjistik etki). Bu nedenle oksidan-antioksidan dengesinin belirlenmesi için antioksidanların tek tek ölçümünün yapılması yerine TAK ölçümünün daha yararlı olduğu bildirilmektedir (60). Albümin, ürik asit, askorbik asit, vitamin E ve bilirubin TAK'a katkı sağlayan temel moleküllerdir (60).

TAK ölçümüne yönelik geliştirilen yöntemler zaman ve emek isteyen, pahalı ve rutin kullanımda yer alması mümkün olmayan yöntemlerdir (60). Ancak Erel'in (60) geliştirdiği yeni TAK metodu hızlı, kolay, stabil, güvenilir, ucuz, tam otomatik bir metot olup sonuçlar çok iyi tekrarlanabilmektedir. Ayraçların ömürleri uzundur. Bu metot bilirubin, ürik asit, vitamin C, polifenoller ve proteinlerin antioksidatif etkilerinin belirlenmesi için en uygun metottur. Ayrıca bu metotta, hemoglobin, bilirubin, EDTA, sitrat ve okzalit ölçüm ile bağlantılı değildir ve TAK'ı ölçmek için kullanılabilir (60).

Antioksidanlarda olduğu gibi serum ya da plazmada farklı oksidan moleküllerin ayrı ayrı ölçümü pratik olmadığından ve bu oksidanların bir arada etki etmesi her birinin tek başına oluşturduğundan daha fazla oksidan etki ortaya çıkarmasından dolayı TOK ölçümünün daha yararlı olduğu bildirilmektedir (61). Total oksidan kapasite; total peroksit, serum oksidasyon aktivitesi ve reaktif oksijen metabolitleri gibi isimler de almaktadır (32, 61).

Total oksidan kapasiteyi ölçmek için birkaç farklı kolorimetrik metot geliştirilmesine rağmen, bunların hiç biri ideal değildir. Bu metotlar analitik problemlere ve teknik kısıtlamalara sahiptir (61). Ancak Erel'in (61) geliştirdiği yeni metot total oksidan kapasite ölçümü için idealdir. Bu metot diğer metotlara göre, hızlı, kolay, stabil, güvenilir, daha duyarlı ve ucuzdur. Sonuçları çok iyi tekrarlanabilir. Ayraçların ömürleri uzun ve uygulaması kolaydır (61).

1.4. Paraoksonaz Enzimi (PON, EC 3.1.8.1)

Paraoksonaz enzimi (PON) ilk defa 1953 yılında Aldridge W.N. (6) tarafından *p*-nitrofenil asetat, propiyonik asit ve bütirik asiti hidroliz eden A-esteraz olarak keşfedilmiştir. 1965 yılında Ooms A.J. tarafından (129), parathion ve paraoksona spesifik hidroliz özelliği saptanmıştır. 1973 yılında bir grup Alman araştırmacı, ilk olarak insan serum PON'unu genetik olarak saptamışlardır (73). 1985 yılına kadar PON saflaştırılmış, nörotoksik olan organofosfatlar üzerine etkisi incelenmiş ve detoksifikasyondaki rolü araştırılmıştır (25).

Bir insektisit olan parathionun metaboliti olan "paraokson"u hidroliz etme özelliği karakterize edildiğinden, bu enzime 1985'te "Paraoksonaz" ismi verilmiştir (125). 1985 yılında Mackness M.I. ve ark. (117)'ları ilk olarak HDL kolesterol ayırımı esnasında lipoprotein fraksiyonunda enzimin arilesteraz aktivitesine rastlamışlardır. 1988 yılında Mackness M.I ve ark. (118)'ları, PON'un HDL üzerinde apo A1'e bağımlı olarak aktivite gösterdiğini ve LDL üzerindeki lipoperoksit birikimini azalttığını bulmuşlardır. 1993-1994'te immünoaffinite kromatografisiyle, PON'un HDL'nin apo A1 ve klusterin (apo J) komponentleriyle ilişkili olduğu saptanmıştır (126). 1996 yılında, paraoksonaz aktivitesinden sorumlu genin bir multigen ailesinin üyesi olduğu tespit edilmiş ve sırasıyla PON1, PON2 ve PON3 olarak isimlendirilmiştir (136).

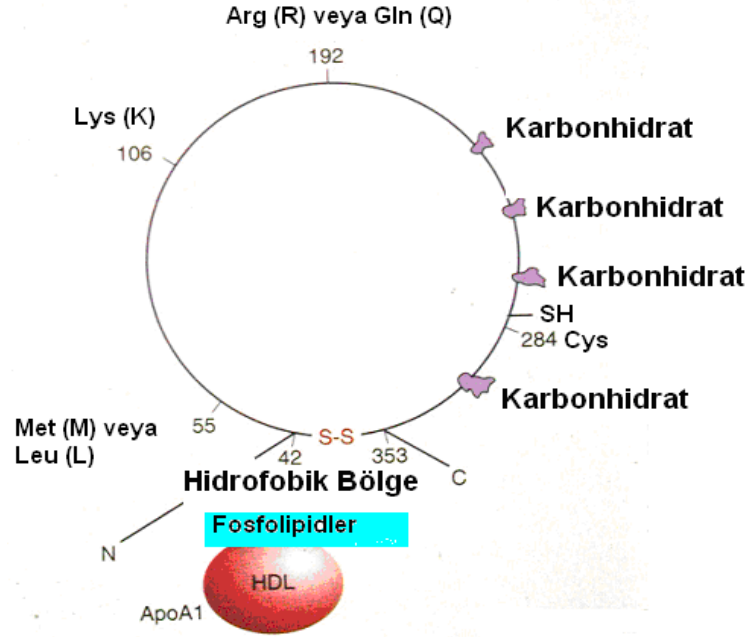
Paraoksonaz ve arilesteraz her ne kadar iki ayrı enzim olarak algılanırsa da insan serumunda tek gen ürünü olan PON1 enziminin hem arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitesine sahip olduğu bildirilmektedir (16). Substrat olarak paraokson kullanıldığında enzimin paraoksonaz aktivitesi; substrat olarak fenilasetat kullanıldığında ise enzimin arilesteraz aktivitesi ölçülmektedir. Hatta bu enzimin laktonaz aktivitesine de sahip olduğunu gösteren çalışmalarda mevcuttur (16, 54).

1.4.1. Paraoksonazın Yapısal Özellikleri

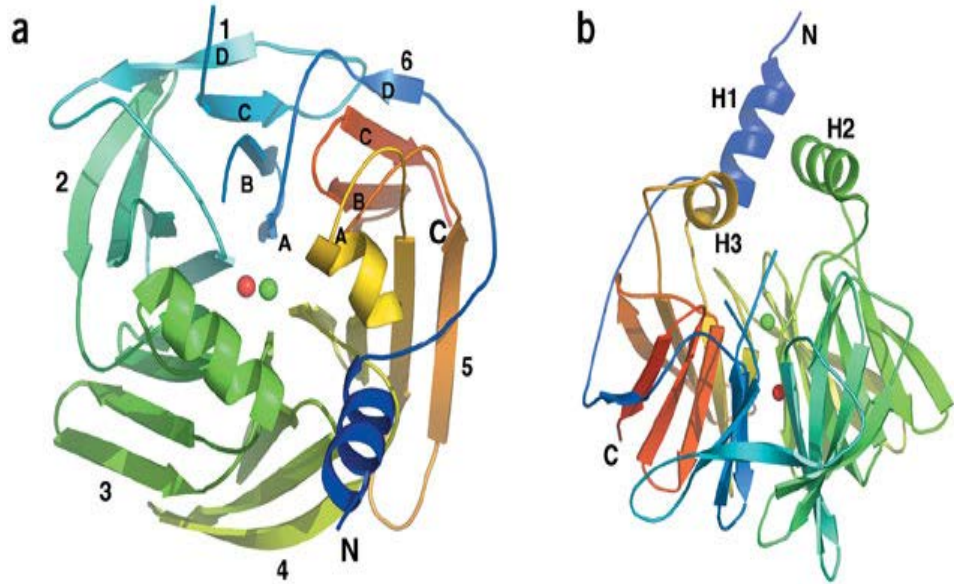
Paraoksonaz (PON1), 43-45 kDa ağırlığında, 354 aminoasit içeren, aktivitesi ve kararlılığı için Ca^{+2} iyonuna bağımlı bir esteraz olup glikoprotein yapısındadır. Her molekül toplam ağırlığın % 15.8'ini oluşturan dört karbonhidrat zinciri içerir. İzoelektrik nokta pH'sı 5.1'dir. Organofosfatların hidrolizini katalizleyen bu enzim, karaciğer, böbrek, barsak ve serumda HDL' ye bağılı olarak yaygın bir şekilde bulunmaktadır (175).

PON1, hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL lipidlerine kolayca bağlanabilmektedir. PON1'i bağlayan HDL alt birimleri, Apolipoprotein A1 (Apo A1) ve Apo J (klusterin) proteinlerini de içerdiğinden, Apo A1 ve Apo J'nin bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (43). Aşağıda Şekil 1.9'da, 55. ve 192. pozisyonda iki polimorfik bölge belirtilmiştir. Mevcut olan karbonhidrat zincirleri ve zincirin amino terminal ucunda hidrofobik baş gösterilmiştir (13).

PON1, heliks şeklinde yerleşmiş ve her biri 4 sıradan oluşan 6 adet β tabakadan meydana gelmiştir. PON1'in yapısında 3 tane hidrofobik heliks yapısı (H1, H2 ve H3) vardır. H2 ve H3 hidrofobik heliksler aktif bölgede bulunmaktadır ve aktif bölgenin yapısının belirlenmesi, enzimin HDL'ye bağlanması gibi kritik rollere sahiptir (82).



Şekil 1.9. Paraoksonaz enziminin yapısı (13).



Şekil 1.10. PON1'in üç boyutlu yapısı (93).

a- 6'lı β pervane (heliks) yapısının üstten görünümü.

b- 6'lı β pervane yapısının yandan görünümü.

PON1'in paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri için Ca^{+2} gerektirmesi, Co^{+2} , Mn^{+2} , Mg^{+2} kullanan diğer esteraz tipi enzimlerden ayrılır (140). Üç boyutlu yapıda β tabakaların merkezinde, 7.4 \AA aralıklı iki adet Ca^{+2} iyonu bulunmaktadır. Bunlardan yapısal Ca^{+2} 'un yapıdan uzaklaştırılması, geri dönüşümsüz denatürasyona neden olmaktadır. Diğer ise katalitik etkinlikte görev alan Ca^{+2} 'dur. PON1'in organofosfat substratlarına karşı hidrolitik aktivitesi iki Ca^{+2} 'a da bağımlı iken, lipid peroksitlerin birikimini önlemede sadece yapısal Ca^{+2} 'un gerekli olduğu bildirilmektedir (100).

Ca^{+2} iyonları, katalitik mekanizmada iki görev üstlenir;

1. Reaksiyona direkt olarak katılır ve aktif bölgenin uygun konformasyonunu sürdürmesini sağlar.
2. Dietilfosfatın çıkmasını kolaylaştırır.

Büyük olasılıkla bu, paraoksonun $\text{P}=\text{O}$ bağının polarize olmasıyla fosforun nükleofilik saldırıya yatkın hale gelmesi şeklinde olur. Kısaca ifade edilecek olursa kalsiyum hem aktivite hem de stabilite için gereklidir. Paraoksonaz ve arilesterazın kalsiyum gerekliliğinden dolayı enzim aktivitesi tayin edilirken EDTA'lı plazma kullanımı tercih edilmemektedir (141).

PON1'in protein kısmında 354 aminoasit içinde substrat tanınması ve bağlanması için gerekli olan serbest sisteinlerin yalnız üç tane sistein kalıntısı vardır. Yapısında bulunan üç sisteinden 284'teki serbest iken diğer ikisi (Cys 42-352) arasında tek disülfid bağı bulunmaktadır. Sisteinler esteraz aktif merkezinin anahtar bileşeni olmasını sağlamaktadır. Dolayısıyla enzim aktivitesi sülfidril bileşikleri ile inhibe olur ve bu inhibisyon sistein ile geri dönebilmektedir. Bu da PON1'in antioksidan kapasitesinin serbest tiyol gruplarıyla orantılı olduğunu göstermektedir (91).

1.4.2. Paraoksonazın Biyolojik Fonksiyonları

PON1'in en iyi bilinen biyolojik fonksiyonu; sinir gazları (soman, sarin) gibi aromatik karboksilik asit esterleri ve insektisitler gibi organofosfatlara ters bağlanıp hidroliz ederek, dolaşıma giren organofosfatların nörotoksitesini engellemesidir. Organofosfat bileşiklerinden parathionun aktif katabolik metaboliti olan paraokson (O,O-dietil-O-p-nitrofenil fosfat) asetilkolini yıkan kolinesterazların güçlü inhibitörüdür. PON1'in paraoksona etkisi ile oluşan hidrolitik ürünler, paraoksonun kendisine göre daha az zararlıdır. Memelilere kıyasla böceklerin de içinde bulunduğu omurgasızlar, kuşlar ve balıklarda serumda PON1'in bulunmamasına bağlı olarak organofosfat zehirlenmesine yatkınlığın daha yüksek olduğu gözlenmiştir (38, 39). Katalitik etkinlikte yer alan kalsiyum iyonu, bir su molekülü varlığında fosfat iyonunun oksijeni ile etkileşir ve paraoksonun P=O bağı polarize ederek dietil fosfatın aktif alandan ayrılmasını kolaylaştırır. PON1'in organofosfat substratlarına karşı hidrolitik aktivitesi iki kalsiyuma da bağımlı iken lipid peroksidlerin birikimini önlemede sadece yapısal kalsiyumun yeterli olduğu bildirilmektedir (113).

PON1'in belirlenen ikinci biyolojik fonksiyonu ise antiaterojenik aktiviteye sahip olmasıdır. Serum PON1 enzimi, plazmada HDL ile birlikte bulunur ve plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunu önlemede rolü olduğu düşünülmektedir. Peroksidasyona uğramış olan lipidler bu enzim tarafından metabolize edildiğinden, lipid peroksidlerin hem HDL'de hem de LDL'de birikimi önlenir. HDL'nin LDL'yi oksidasyona karşı koruyucu etkisi A ve E vitaminlerinden daha etkilidir (119, 146). Antioksidan enzim olması nedeni ile PON1'in kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, sepsis, Alzheimer ve Parkinson gibi pek çok hastalığın oluşmasına karşı koruyucu rol oynayabileceği düşünülmektedir (48).

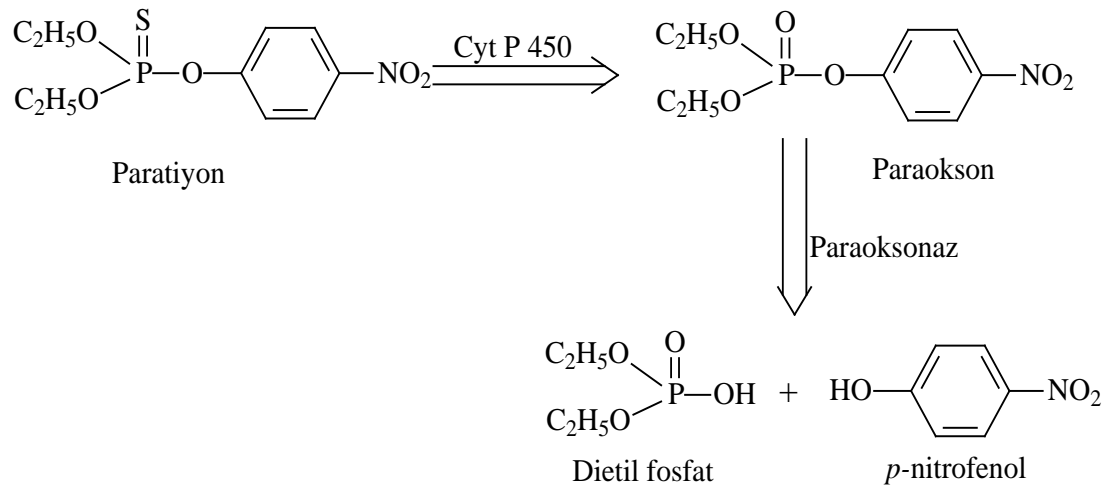
PON1'in doğal aktivitesinin laktonaz olduğunu bildirilmiş ve son yayınlar enzimi Ca-bağımlı lipofilik laktonaz olarak tanımlamaktadır (101). PON1 özellikle LDL ve HDL lipidlerinin okside olmasını önleyerek, HDL ve LDL'de yağ asidi oksidasyon ürünlerini metabolize ederek ateroskleroza karşı koruyuculuğunu sahip olduğu laktonaz aktivitesi ile göstermektedir (101).

1.4.3. Paraoksonazın Sentezi ve Salgılanması

Karaciğerde sentezlenip, dolaşıma salınan PON1'in salınımını etkileyen faktörler serum düzeylerini etkilemektedir (43). Deakin ve ark. (42)'ları hücre kültürü çalışmalarında lipoproteinlerin yokluğunda çok az PON1'in salındığını bildirmişlerdir. PON1 salınımını fosfolipid misellerinin ve HDL'nin stimüle ettiğini, LDL'nin ve lipidsiz apoAI'in salınımında hiçbir etkisinin olmadığını göstermişlerdir. Bu sonuç, PON1'in dolaşıma salınabilmesi için en etkili fizyolojik akseptörün HDL olduğunu göstermektedir (42). HDL'ye bağlı olan enzimlerden üç boyutlu yapısı ilk aydınlatılan PON1 enzimidir (82).

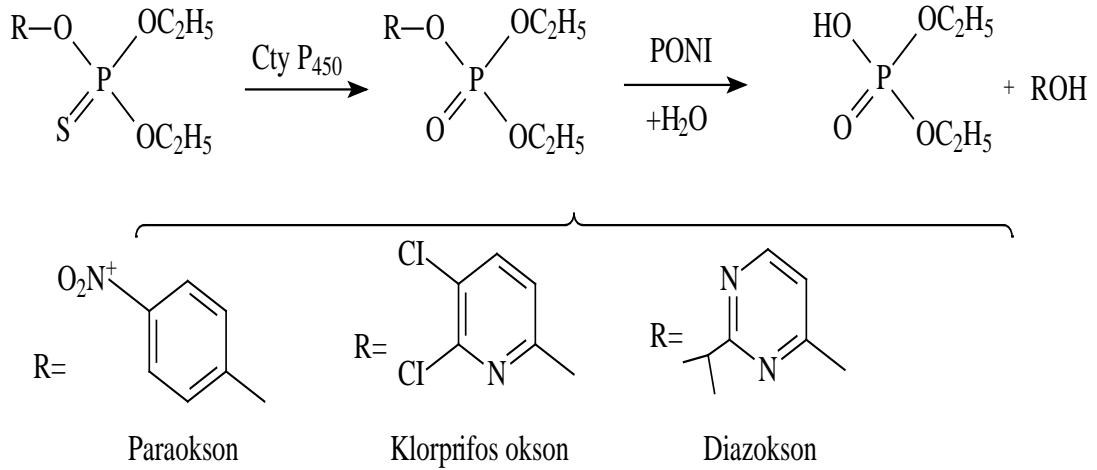
1.4.4. Paraoksonazın Organofosfat Detoksifikasyonu

PON1'in en iyi bilinen koruyucu fonksiyonu, organofosfat sinir ajanlarını, aromatik karboksilik asit esterlerini ve insektisitleri hidroliz etme yeteneğidir. Organofosfatlı pestisitler (örneğin parathion), tarımda toksik olmayan tiyosülfür bileşikleri türevleri olarak kullanılır. Organofosfatlı pestisitler *in vivo* olarak sitokrom p-450 bağımlı mikrozomal monooksijenazlar ile oksidatif desülfürasyon tepkimesi sonucu oldukça toksik oksijen analoglarına (okson) aktive olurlar. PON1 parathionun oksidatif desülfürasyonu ile oluşan paraoksonu hidroliz ederek p-nitrofenol ve dietilfosfat oluşumuna yol açar (82, 120).

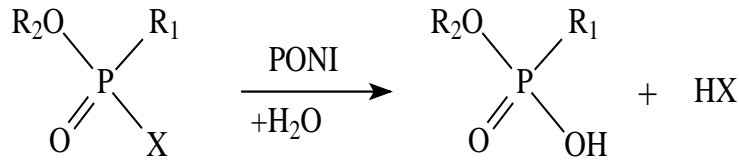


Şekil 1.11. Paraoksonun enzimatik hidrolizi (120).

İnsan serum PON1 enzimi parathion, diazinon ve CPF gibi çok sayıda insektisitlerin toksik okson metabolitlerini (Şekil 1.12) ve soman, sarin, tabun gibi organofosfat sinir ajanlarını hidroliz edebilmektedir (Şekil 1.13). İnsan sağlığı açısından organofosfatlı bileşikler terörizm tehdidi olduğu kadar, önemli bir çevresel risk faktörü oluşturur. PON1 enziminin çok yönlü bir araştırma konusu olmasının en önemli nedenlerinden biri budur (82).



Şekil 1.12. İsektisitlerde yaygın kullanılan okson metabolitlerinin hidrolizi (82).



$\text{R}_1 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{CH}_3$ $\text{X} = \text{CN}$ Etil N-dimetilfosforoamido siyanid (Tabun)

$\text{R}_1 = \text{CH}_3$ $\text{R}_2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ $\text{X} = \text{F}$ isopropil metilfosfonofloridat (Sarin)

$\text{R}_1 = \text{CH}_3$ $\text{R}_2 = \text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{CH}_3)_3$ $\text{X} = \text{F}$ Pinakolil metilfosfonofloridat (Soman)

Şekil 1.13. Sinir gazlarının hidrolizi (82).

PON1'in organofosfatlı bileşiklerin toksisitesindeki rolü ile ilgili kanıtlar türler arası karşılaştırmalardan ve saflaştırılmış PON1 enzimi kullanılan hayvan çalışmalarından gelmektedir. Yapılan ilk çalışmalarla, organofosfatlı pestisitlere karşı son derece hassas olan kuşların çok düşük serum PON1 aktivitesine sahip oldukları gösterilmiştir (24, 116). Sıçanlar organofosfatlı pestisitlere karşı kuşlardan daha dayanıklı olup, serum PON1 aktivitesi sıçanlardan 7 kat yüksek olan tavşanlar da sıçanlara göre daha dayanıklıdır (24). Bu ilk çalışmalar, düşük serum PON1 aktivitesine sahip olmanın organofosfatlı bileşiklerin akut etkilerine karşı duyarlılığı arttırdığını ortaya koymaktadır (38).

Costa ve ark. (37)'ları tarafından yürütülen bir çalışmada, tavşan serumundan saflaştırılıp sıçanlara intravenöz yolla enjekte edilen PON1 enziminin, sıçanların serum PON1 aktivitesini paraoksona karşı 9 kat, klorprifos oksona karşı 50 kat arttırdığı görülmüştür. Bu sıçanların organik fosforlu bileşiklerin herhangi birine maruz bırakılmasının ardından değişik dokulardaki asetilkolinesteraz baskılanmasının düzeyi ölçülmüş, enjekte edilen PON1'in, özellikle klorprifos oksona karşı sıçanların direncini arttırdığı gözlenmiştir. Bu korumanın, beyin ve diyafram dokularında daha belirgin olduğu ve organofosfatlı bileşiklerle temas cilt yoluyla gerçekleştiğinde de etkili olduğu bildirilmiştir (37).

Main 1956 yılında yaptığı çalışmasında, tavşan serumundan kısmen saflaştırılmış PON1 enzimini sıçanlara enjekte etmiş ve enjekte edilen PON1'in etkisiyle sıçanlarda meydana gelen paraoksonun akut toksisitesinde belirgin bir düşüş gözlemlemiştir (121).

Benzer şekilde yapılan çalışmalarda ise farelere enjekte edilen eksojen PON1'in, klorprifos oksonun yanı sıra, insektisit olarak kullanılan CPF'ye karşı da koruma sağladığı gözlemlenmiştir. Üstelik PON1 enjeksiyonunun, organofosfat maruziyetinin öncesinde yapıldığında zehirlenmeyi engellediği gibi, maruziyetten sonra (yaklaşık 3 saate kadar) yapıldığında da koruma sağladığı gösterilmiştir (109).

Organofosfatlara karşı koruma sadece enzimin kan ve doku seviyelerine değil partiküler izoenzimlere de bağlıdır. PON1_{192R} izoformu, paraoksonu PON1_{192Q} formundan daha hızlı hidroliz ederken, PON1_{192Q} izoformunun diazokson, somon ve sarin'i *in vitro* koşullarda daha hızlı hidroliz ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle PON1'in koruyucu rolü değerlendirilirken, tipi de dikkate alınmalıdır (85, 158).

Körfez Savaşı Sendromu'nda, Irak'a gönderilen Amerikan askerlerinde bazılarında yorgunluk, kas güçsüzlüğü ve nörolojik hasarlar görülürken diğer askerlerde sendrom belirtilerine rastlanmamıştır. PON1 enziminin, Irak tarafından kimyasal silah olarak kullanılmış olan sarin, diazokson gibi organofosfat bileşiklerini detoksifiye ettiğinin anlaşılmasından sonra Körfez Savaşı'na katılmış olan askerlerde PON1 aktiviteleri araştırılmış ve Körfez Savaşı Sendromu olan hastalarda PON1 aktivitesinin oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir (70).

1.5. Plazma Lipidleri

Plazmadaki temel lipidler; kolesterol, trigliserit, fosfolipid ve serbest yağ asitleridir. Lipidlerin en karakteristik özelliklerinden biri suda çözünürlüklerinin az olmasıdır. Lipidlerin suda çözünürlüklerini artıran ve plazmada taşınmalarını sağlayan ise lipoprotein denen özel yapılardır. Lipoproteinlerle ilişkili olan ve yüzeylerinde bulunan protein yapısındaki moleküllere *apolipoprotein* adı verilmektedir. Bunların görevleri ise lipoproteinlerin hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanmasını, apolar lipidlerin stabilizasyonunu ve lipoproteinlerin metabolize edilmesini sağlamaktır. Bir lipoprotein de dış kısmında protein ve polar lipidler (fosfolipid ve serbest kolesterol) den oluşan bir tabaka ile iç kısmında hidrofobik ve nötral lipidlerden (trigliserit ve kolesterol esteri) oluşan çekirdek yapısı bulunur (142).

Organizmada bulunan temel sterol olan kolesterol, tüm steroidlerin ön maddesidir. Fosfolipidler, bir gliserolün hidroksil grubunun ikisinin yağ asitleriyle, diğerinin ise fosforik asit ile esterleşmesi sonucu oluşmaktadır. Bir gliserol molekülü ile üç yağ asidi molekülünün ester bağı ile birleşmesi sonucu ise triaçilgliseroller meydana gelmektedir. Serbest yağ asitleri, plazmada albüminlere bağlı olarak bulunmaktadır. Trigliseritler ise depo yağlarının büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Lipoproteinler dansitelerine göre; şilomikronlar (ŞM), çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), orta dansiteli lipoproteinler (IDL), düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) olmak üzere beşe ayrılmaktadır (44, 123, 142).

A. Şilomikronlar: Plazma lipoproteinlerinin en büyükleri olup, % 98-99 oranında lipid ve % 1-2 oranında protein içerir. Trigliseritler ile beraber hem fosfolipidler hem de kolesterol büyük şilomikron partiküllerinin yapımında kullanılırlar. Karaciğerde şilomikron kalıntılarında VLDL'ler oluşur ve bunlar da dolaşıma verilirler.

B. Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL): Yüzde 85-90 arasında lipid ve % 10-15 protein içeren VLDL'ler; endojen trigliseritlere ek olarak serbest kolesterol, kolesterol esterleri, fosfolipid ve apolipoproteinleri de içerirler. Lipoprotein lipaz, VLDL trigliseritlerinden serbest yağ asitlerinin salınmasına neden olur ve lipid

içeriği gittikçe azalan VLDL'ler, yaklaşık olarak eşit miktarlarda trigliserit ve kolesterol içeren ara dansiteli lipoproteinlere (IDL), bunlarda düşük dansiteli lipoprotein (LDL) haline değiştirilirler.

C. Orta Dansiteli Lipoproteinler (IDL): Normal olarak plazmada çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. Büyüklük ve içerik bakımından VLDL ile LDL arasında yer alır. IDL; VLDL'nin katabolizma ürünü, LDL'nin ise öncülüdür.

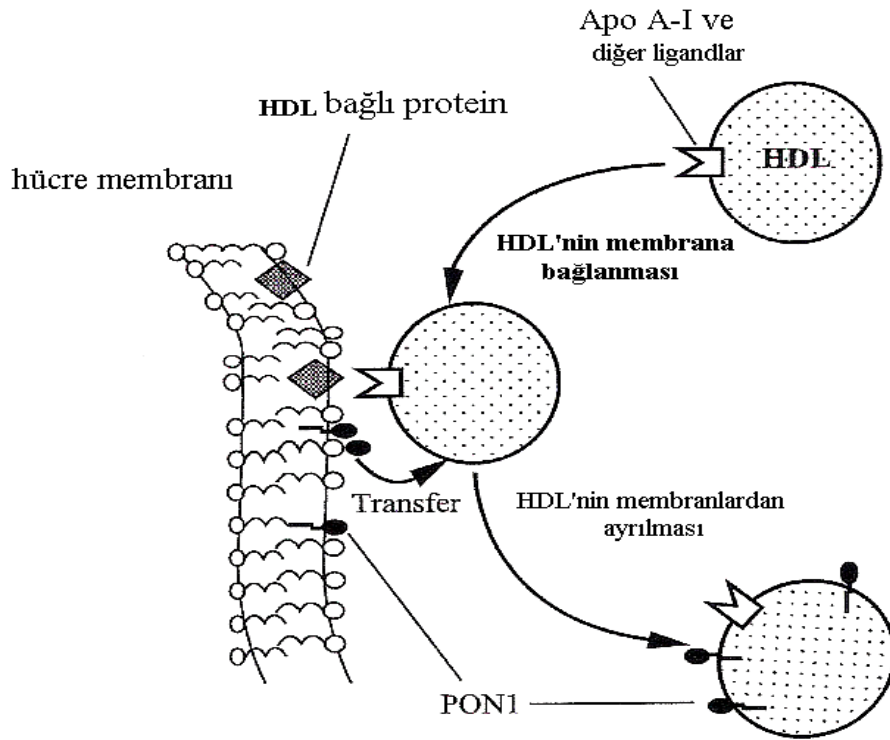
D. Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL): Plazmada başlıca kolesterol taşıyıcı lipoprotein olup, total plazma kolesterolünün yaklaşık % 70'ini oluşturur. Yaklaşık % 75 lipid ve % 25 proteinden oluşan LDL, trigliserit içeriği çok az, kolesterol ve kolesterol esterlerinden çok zengin lipoproteinler olup temel apolipoproteinleri apoB-100'dür. LDL'ler, kolesterolü karaciğerden başka dokulara taşırlar ve burada yıkılarak kolesterol ve türevlerine dönüşürler. LDL'lerin yıkılmasıyla meydana gelen kolesterol ve kolesterol türevleri çeşitli metabolik etkiler gösterir. Kanda aşırı miktarda LDL bulunması durumunda LDL'ler, süperoksit ve H₂O₂ gibi etkenler vasıtasıyla oksitlenir.

E. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL): Karaciğerde ve ince barsak duvarlarında sentezlenen bir önemli lipoprotein sınıfıdır. HDL'ler, ağırlıkça %55 oranında protein %2 oranında serbest kolesterol, %15 oranında kolesterol esteri, %24 oranında fosfolipid, %4 oranında trigliserit içerirler. İlk oluşan olgun HDL, HDL3 olarak bilinir. Daha sonra kolesterol esterlerinin artması ve apoE katılmasıyla HDL2 ve daha ileri aşamada HDL1 oluşur. Dolaşım sırasında kolesterolden zenginleşen HDL, karaciğere dönünce kolesterolünü karaciğerde bırakır ve bu fonksiyonu 'antiaterojenik etki' oluşturur.

Lipidlerin suda çözünürlüklerini artıran ve plazmada taşınmalarını sağlayan lipoproteinler, ayrıca yağda eriyen vitaminler (A, D, E, K), ilaçlar (probukol, siklosporin vb.) ve bazı antioksidan enzimler (Paraoksonaz, trombosit aktive edici faktör hidrolaz-PAFAH) gibi birçok maddeyi de taşırlar (44).

Serum PON1 enzimi plazmada HDL ile birlikte bulunur ve plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunu önlemede rolü olduğu bildirilmektedir (117). Deneysel çalışmalar PON1 enziminin HDL'nin apoA-I ve apo J (clustrein) proteinleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (83). Son zamanlarda apoA-II içeren HDL'lerin de PON1 taşıdıkları tespit edilmiştir (43).

PON1 enziminin N-terminal ucunda bulunan hidrofobik yapıdaki sonlanma bölgesi HDL ile etkileşim için gereklidir. PON1, bu hidrofobik bölge aracılığı ile fosfolipidler ve lipoproteinlere bağlanır. Apo A-I'in, PON1 enziminin fosfolipidlere bağlanmasında rol oynayabileceği düşünülmektedir. Ayrıca apo A-I'in PON1 aktivitesini stabilize ettiği bildirilmektedir (157).



Şekil 1.14. Paraoksonaz enziminin hücreden HDL'ye transferi (90).

Apolipoprotein A1'in, PON1 enziminin fosfolipidlere bağlanması ve stabilizasyonunda rol oynadığını gösteren çeşitli çalışmalar mevcut olup, özellikle HDL3 fraksiyonunun fazla olduğu bireylerde ve Apo J içeriğinin yüksek olduğu HDL3'lerde PON1 aktivitesinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir (164).

Dolaşımdaki PON1 ve HDL arasındaki ilişki; PON1 ekspresyonun ve biyolojik rolünün, HDL ile ilişkili diğer proteinlerce etkilenebileceğini göstermiştir. Örneğin, PON1 ancak HDL tarafından serbestleştirildikten sonra endojen substratı ile etkileşebilir ve biyolojik özelliklerini sergileyebilir. Buna karşılık PON1'de HDL'yi oksidasyondan korur. Bu nedenle, PON1 ve HDL arasındaki ilişkinin anlaşılması katalitik komponentlerinin belirlenmesi açısından önemlidir (21, 90).

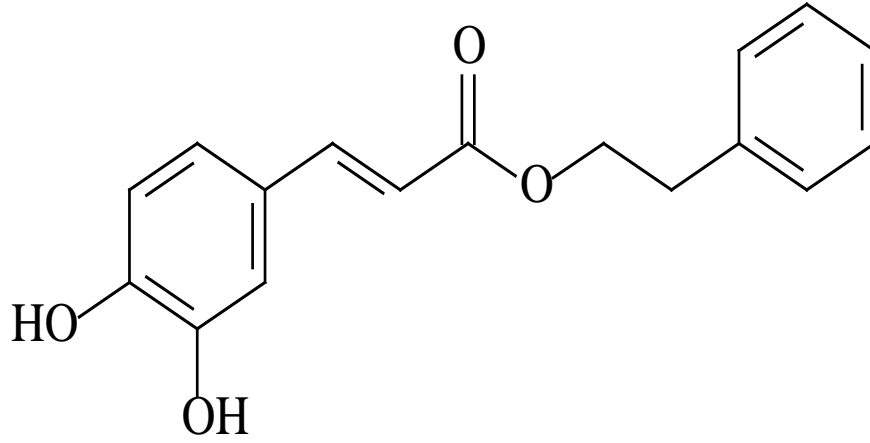
PON1 enzimi, lipid peroksidleri hidrolize ederek LDL'yi oksidasyondan korumaktadır (115). PON1'in LDL oksidasyonunu önleyerek oksid-LDL oluşumunu azaltması ve HDL'deki ApoA1 ile olan ilişkisine bağlı olarak koroner arter hastalıklarında önemli bir koruyucu etkisi olduğu belirtilmektedir (17).

1.6. Kafeik Asit Fenetil Ester'in Yapısı ve Kimyasal Özellikleri

Propolis bal arılarının bitkilerden topladığı ve kendilerini zararlı bakteri, virüs ve mantarlara karşı korudukları bitki reçinesidir. Propolis, arı kovanlarının çatlak ve hasarlanmış yerlerinin tamirinde, dış ortamdan izole edilmesinde, giriş deliklerinin daraltılmasında, kovanın içine giren zararlı maddeler, mikroorganizmalar ve böceklerin muflanarak etkisiz duruma getirilmesi işlemlerinde kullanılmaktadır (7, 130). Propoliste yaklaşık 100 çeşitten fazla bileşen bulunmaktadır. Arıların bitkilerden topladığı maddelere göre değişmekle beraber propoliste en fazla bulunan biyolojik olarak aktif bileşenler flavonoidler, kafeik asit ve esterleri'dir (29, 145).

Propolisin antioksidan, antimikrobial, antiviral ve antiinflamatuvar özellikleri ve timus aktivitesi ile bağışıklık sistemini harekete geçiren özellikleri olduğu bildirilmektedir (128). Yapılan çalışmalarda bal arılarının ürettiği propolisin aktif bir komponenti olan kafeik asit fenetil ester'in (CAPE) antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, immünomodülatör ve nöroprotektif etkisi olduğu gösterilmiştir (29). CAPE diğer propolis bileşenlerine göre araşidonik asit kaskadını güçlü şekilde modüle ettiğinden antiinflamatuvar etkisi daha belirgindir (29).

Yapı olarak flavonoidlere benzeyen CAPE'nin iki halkasal yapısı vardır. Bu halkalardan bir tanesinde molekülün hemen hemen bütün kimyasal özelliklerini gösteren ve fonksiyonel olan iki "-OH" gruba vardır. Hidroksil grupları, aktif bir şekilde elektron alıp vererek oksitleyici ve redükleyici özellik gösterirler. Çok uzun aromatik ve alifatik yapıda karbon grupları taşıdığı için aynı zamanda lipofilik özelliktedir (145). Böylece molekülün kolayca hücre membran yapılarından geçmesi ve etki edeceği bölgeye ulaşması kolaylaşmış olmaktadır (145).



Şekil 1.15. CAPE'nin kimyasal yapısı (174).

1.6.1. CAPE'nin Nöroprotektif ve Antioksidan Etkisi

Kafeik asit fenetil ester, linoleik asit ve araşidonik asitin 5- lipooksijenaz tarafından oluşturulan oksijenasyonunu inhibe eder. Yaklaşık olarak 10 micromol/L konsantrasyonda *in vitro* koşullarda nötrofiller veya ksantin/ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan ROT'u tamamen bloke eder (88). Yapılan bir çalışmada, pentilentetrazolün neden olduğu nöbete bağlı merkezi sinir sistemindeki hasara karşı CAPE'nin nöroprotektif ve antioksidan etkisinin gösterilmiştir (89).

Kafeik asit fenetil ester'in antiapoptotik etkilerinden yola çıkılarak, PH'da 6-hidroksi dopaminin indüklediği nörotoksisitenin nasıl engellenebileceği hücre kültüründe çalışılmıştır (125). Bunun için beyincik granül nöronlarının primer kültürü hazırlanmış, ayrıca sıçan karaciğer mitokondrileri 7 günlük Sprague-Dawley sıçanlarından hazırlanarak mitokondri kaynaklı apoptosis çalışılmıştır. Sonuç olarak, CAPE uygulaması mitokondrilerden sitokrom c'nin serbestleşmesini azaltarak mitokondrilerin yapısal bütünlüğünün korunduğunu göstermiştir (125). Nigral nöronlarda bu koruyucu madde ile mitokondrilerin bütünlüğü korunarak nörodejeneratif yol engellenmektedir (5).

Yapılan bir çalışmada, MPTP ile deneysel PH oluşturulan farelerde CAPE'nin MPTP nörotoksisitesini azalttığı, PH belirtilerinin ilerlemesini önlediği ve yavaşlattığı tespit edilmiştir. Böylece CAPE'nin PH ve diğer nörodejeneratif bozuklukları önlediği ve tedavi sürecine katkısı olduğu bildirilmektedir (68).

İlhan ve ark. (88)'ları, tavşanlarda spinal kordda iskemi/reperfüzyon hasarına karşı CAPE'nin ve metil prednizolonun koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada, CAPE grubunda MDA düzeyi belirgin olarak düşük bulunmuş ve ek doku hasarı saptanmamıştır.

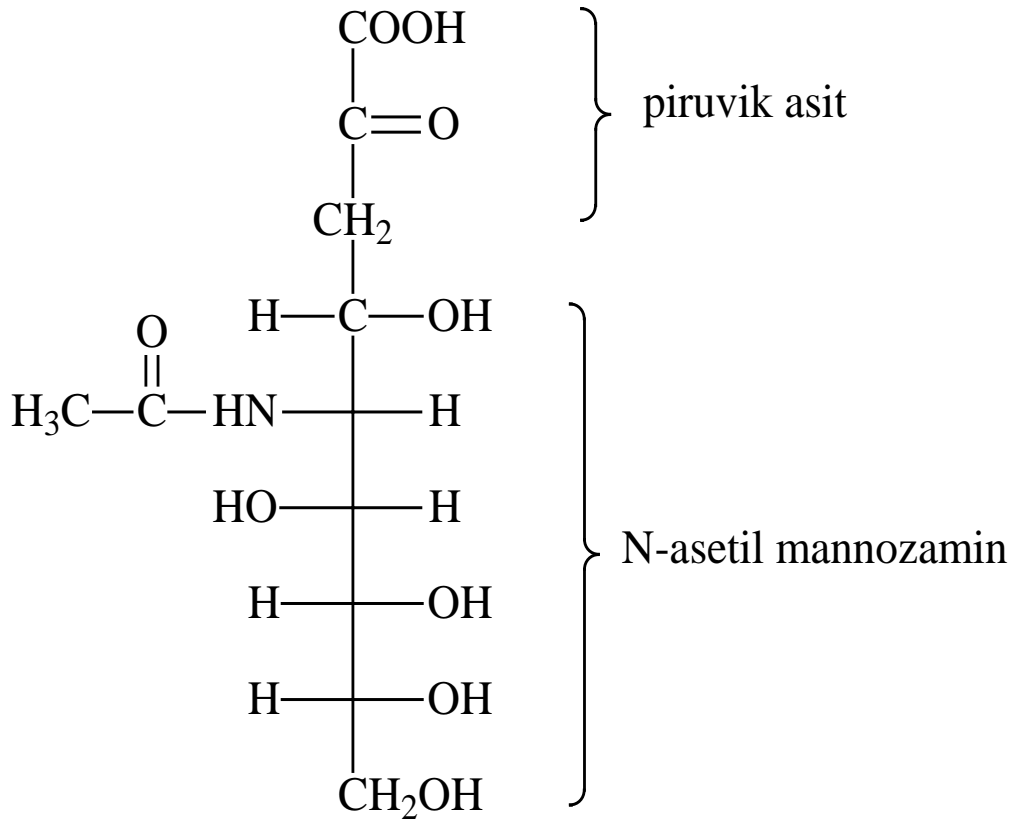
Yağmurca ve ark. (178)'ları antikanser olan Doksorubusin'in toksisitesine CAPE'nin koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada, Doksorubusin grubunda myeloperoksidaz, NO, MDA seviyelerinin renal dokuda artmış ve CAT ve GSH-Px aktivitelerinin azalmış olduğunu, Doksorubusinle birlikte CAPE verilmesinin lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunda azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Fadilloğlu ve ark. (64)'ları doksorubusin'in neden olduğu nöronal oksidatif hasara karşı CAPE'nin nöroprotektif etkisini göstermişlerdir.

Propolis bileşenlerinden olan galanginin ve CAPE'nin antioksidan etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; her iki bileşenin de ortamdaki O_2^- radikallerini ve ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan ROT'u temizlediği ve CAPE'nin galanginden daha belirgin olarak MDA seviyesini azalttığı kaydedilmektedir (145).

1.7. SİALİK ASİT

Yunanca tükürük anlamına gelen “sialos” kelimesinden türetilmiş olan sialik asit (SA), ilk kez 1936 yılında Blix tarafından sığırların tükürük bezi mütininden izole edilmiştir (22). SA’lar, hücre membranı ve plazmada, diğer hücre bölgelerinde glikoproteinlerin ve glikolipidlerin önemli komponentlerinden olan, aynı zamanda ketozlar sınıfında yer alan dokuz karbonlu nöraminik asitin asetillenmiş ve glikozillenmiş türevleridir (104).

Doğada birçok canlı türünde yirmiden fazla SA türü mevcuttur. İnsan dokularında yer alan temel SA türevi, beşinci karbon atomu asetillenmiş N-asetil nöraminik asittir (NANA). Moleküler formülü $C_{11}H_{19}NO_9$ olan NANA’nın moleküler ağırlığı ise 309 daltondur. SA’nın, lineer ve piranoz olmak üzere iki formu bulunmaktadır (124, 166).



Şekil 1.16. Sialik asitin kimyasal yapısı (33).

Sialik asit, nöraminik asitin N- ve O- açıl türevleri olup hem glikoproteinlerin hem gangliozitlerin yapı taşlarıdır. Nöraminik asit, mannozamin ve pirüvattan türeyen dokuz karbonlu bir şekerdir. N-asetil nöraminik asit her biri değişik bölgelerinden asetillenmiş SA ailesinin bir üyesidir. Bu bileşikler genellikle glikoprotein, glikolipid veya daha nadiren glikozaminoglikanların oligosakkarit yan zincirlerinin terminal karbonhidrat kalıntıları olarak bulunurlar (33).

Karbonhidratların, karbonhidrat olmayan yapılarla glikozid bağıyla birleşerek oluşturduğu kompleks karbonhidratlardaki, karbonhidrat olmayan kısma *aglikon*, tüm yapıya *glikozid* adı verilmektedir. Aglikon ile nöraminik asit, α (2→6) bağında N-glikozid bağı ile bağlanarak N-asetil nöraminik asiti oluşturur (33).

Glukozaminlerden sentezlenen SA'lar, sitidin mono fosfat (CMP) türevine dönüşmektedir. Bu ürün de oligosakkaritler ve polisakkaritler ile tepkimeye girerek SA kaynağı olarak görev almaktadır. Sialil tranferaz enzimi aracılığıyla da SA, CMP türevinden glikoprotein zincirinin terminal glukozuna transfer edilmektedir (107).

Sialik asitlerin % 85 - % 90'lık kısmı α ve β - globulinlere [proteine bağlı sialik asit (PSA)], geri kalan % 10 - % 15'lik kısmı ise lipidlere bağlı [lipid bağlı sialik asit (LSA)] halde bulunur. Her ikisine birlikte total sialik asit (TSA) adı verilir (180).

SA'lar, insanda serum, tükürük, beyin sıvısı, idrar ve süt gibi çeşitli vücut sıvılarında (72), safra kesesi salgısında ve kıkırdakta (154) bulunmaktadır. SA'nın sıçan beyni, adrenal bez, kalp ile farelerin karaciğer ve böbreğinde de bulunduğu bildirilmektedir (72).

Memeli dokularında bol miktarda bulunan SA'lar, N-asetil nöraminik asit (Neu5Ac) ve N-glikolil nöraminik asittir (Neu5Gc). SA'nın dokulardaki doğal dağılımını etkileyen en önemli faktör, 4., 5., 7., 8. ve 9. karbon atomlarındaki süstitüsyonlar ve anomerik bağlanma özelliğindeki çeşitliliğidir (35, 169).

Sialik asitler, asidik yapılarından dolayı hücre yüzeyine negatif yük kazandırır ve hücre-hücre ya da hücre-matriks etkileşimlerinde önemli rol oynarlar. SA'ların 1. karbonunda karboksil grubu bulunması fizyolojik koşullar altında moleküle negatif yük kazandırmakta olup, bu özelliğinden dolayı kuvvetli organik asit olarak karakterize edilmektedir. Negatif elektrik yükleri sebebiyle, pozitif yüklü moleküllerin bağlanması ve transportunda olduğu kadar hücreler ve moleküller arası çekme ve itmede de önemli rol oynamaktadır (35, 169). Spesifik hücresel tanıma bölgelerini maskeleyen yeteneğine sahip olan SA'lar, biyolojik bilginin transferinde önemli rollere sahiptir. Ayrıca glikolipidlere ve glikoproteinlere antijenik özellik kazandırır ve glukokonjugatların makromoleküler yapısını etkileyebilirler (149). SA'lar, nöromusküler sinapslarda sinyal akışını düzenlemekte de görev alırlar (76). Bağışıklık, homeostazis ve inflamasyonda farklı tipte hücresel etkileşimlerin gerçekleşmesinde, SA'ların buldukları hidroksil grupları ile birlikte karboksilik asit ve N-asetamid grupları önemlidir (35, 169).

Polisialik asitler, 8-100 α (2 \rightarrow 8) bağlı SA kalıntıları içeren linear yapı gösteren ve özellikle sinir hücrelerinde adezyonu sağlayan temel moleküllerdir. Polisialiltransferaz enzimi tarafından katalizlenen bir reaksiyonla sentezlenirler. Negatif elektrik yüküne sahip polysialik asit kalıntıları, beyin dokusunun gelişiminde, akson potansiyelinin düzenlenmesinde, sinapsların formasyonunda, miyelin kılıf oluşumunda, hücre farklılaşmasında ve hücre göçünde oldukça önemlidirler. Farelerde polysialik asit transferaz enziminde meydana gelen bir kayıp, gelişme ve davranış bozukluklarına yol açmaktadır. Polisialik asit transferaz enziminde meydana gelen hatalar, özellikle uzun süreli depresyonun nedenlerinden biri olarak görülmektedir. Polisialik asitlerin enzimatik olarak parçalanması kök hücre göçünü önlemekte ve yetişkin farelerde erken nöronal farklılaşmaya neden olmaktadır (14, 179).

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun (KAÜ-HADEK) 18.03.2011 tarih ve 2011/007 sayılı izni ile bu çalışmada; 10-12 haftalık, 35 adet (29-35 g ağırlığında), erkek Swiss albino fare kullanıldı. Her birinde 7 adet fare olacak şekilde, 5 grup oluşturularak 10 gün süre ile adaptasyonları sağlanan deney hayvanları, normal fare yemi ve musluk suyu ile *ad libitum* olarak beslendi. Günlük doz uygulamaları, saat 09:00-11:00 arasında yapıldı. Deney süresince hayvanların genel durumları gözlemlenerek kayıt altına alındı. Deneklere 21 gün boyunca uygulanan işlemler aşağıda belirtildi.

1. **Kontrol Grubu (K):** Bu gruba, normal diyet ve gruplar arasında enjeksiyon işlemlerinden meydana gelebilecek stres veya plasebo etkisinden doğabilecek farklılıkları ortadan kaldırmak için, serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) deney süresi boyunca her gün intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı.
2. **Klorprifos-etil Grubu (CPF) :** Farelere, normal diyet ve deri altı (s.c) olarak 80 mg/kg Klorprifos-etil serum fizyolojik ile seyreltilerek, 0., 7. ve 14. günlerde olmak üzere toplam 3 doz uygulandı (98).
3. **Kafeik asit fenetil ester Grubu (CAPE):** Farelere, normal diyet ve intraperitoneal (i.p) olarak 10 µmol/kg CAPE, % 10'luk etanolde çözüldürülerek deney süresi boyunca her gün uygulandı (88).
4. **Klorprifos-etil+Kafeik asit fenetil ester Grubu (CPF+CAPE):** Farelere, normal diyet ve deri altı (s.c) olarak 80 mg/kg Klorprifos-etil, 0., 7. ve 14. günlerde olmak üzere toplam 3 doz olarak uygulandı. İntraperitoneal (i.p) olarak da 10 µmol/kg CAPE deney süresince her gün uygulandı.
5. **Etanol Grubu (E):** Farelere, normal diyet ve %10'luk etanol serum fizyolojik içinde intraperitoneal (i.p) olarak her gün uygulandı.

2.1.1. Hayvanlardan Kan ile Doku Örneklerinin Alınması ve İşlenmesi

Son uygulamalardan 24 saat sonra, kan örnekleri heparinli tüplere intrakardiyak olarak alındı ve farelere servikal dislokasyon yöntemi uygulandı. Kan örnekleri, 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek plazmaları elde edildi ve örnekler analiz edilinceye kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Beyin dokuları hızlı ve hasarsız bir şekilde çıkarıldı. Histopatolojik incelemeler için ayrılan beyin substantia nigra doku izolasyonu hemen gerçekleştirilirken, biyokimyasal analiz için alınan 0.5 g beyin doku örnekleri fosfat tampon çözeltisi (PBS) ile 5 kat sulandırılarak buz üzerinde, 12.000 rpm'de 2 dakika boyunca homojenizatör ile homojenize edildi. Homojenizatlar, 15000 rpm'de 4 °C derecede 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant kısmı biyokimyasal analiz yapılacağı güne kadar (1 hafta) -45 °C'de saklandı.

2.2. Metot

2.2.1. Kullanılan Alet ve Malzemeler

1. Spektrofotometre (Microplate Reader Epoch, Shimadzu UV-1201))
2. Deiyonize su cihazı (Heidolpph, type-mono, Dest-3000)
3. Ayarlanabilir otomatik pipetler (Axygen 5-1000 µl)
4. Soğutmalı santrifüj (Heraeus christ)
5. Manyetik karıştırıcı (Labinco-532)
6. Homojenizatör (Wiggen Hauser)
7. Otoanalizör (HumaStar 600)
8. Buzdolabı (-20 °C) (Bosch)
9. Su banyosu (SB100, Nüve)
10. Hassas terazi (Scaltec)
11. pH metre (inoLab)
12. Vorteks (Labinco)

2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. Total antioksidan kapasite kiti (Rel Assay)
2. Total oksidan kapasite kiti (Rel Assay)
3. p-dimetil amino benzaldehid (Merck)
4. Monosodyum hidrojen fosfat (Fluka)
5. Klorprifos-etil (Hektaş Ticaret A.Ş)
6. Sodyum hidroksit (Sigma-Aldrich)
7. Kalsiyum klorür (Sigma-Aldrich)
8. Disodyum hidrojen fosfat (Fluka)
9. Sodyum klorür (Sigma-Aldrich)
10. Tris-HCl (Sigma-Aldrich)
11. Hidroklorik asit (Merck)
12. NANA standartı (Sigma)
13. Trisma (Sigma-Aldrich)
14. Aseton (Sigma-Aldrich)
15. Etanol (Sigma-Aldrich)
16. CAPE (Sigma-Aldrich)
17. Perklorik asit (Merck)
18. Paraokson (Supelco)

2.2.3. Doku Homojenizasyonu İçin Kullanılan Tampon Çözelti

0,1 M Fosfat tampon çözeltisi (PBS) (pH 7,4): 250 ml'lik balon jöjeye, bir miktar distile su konuldu. Üzerine 18,93g NaCl + 3,075g Na₂HPO₄.2H₂O+ 2,075g NaH₂PO₄.2H₂O'dan belirtilen miktarlarda hassas terazide tartılıp eklendi. Daha sonra manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözündürüldü ve hacmi 250 ml'ye tamamlandı. Solüsyonun pH'sı 7,4'e ayarlandı.

2.2.4. Deneysel Süresince Hayvanlarda Gözlemlenen Değişimlerin Takibi

2.2.4.1. Genel Hareketlerin İzlenmesi (Ludolph Hareket Analizi)

Deneysel PH modelinin oluşup oluşmadığını değerlendirmek için, daha önceki çalışmalarda kullanılan Ludolph Hareket Analizi skalasına göre farelerin genel hareketleri incelendi (114). Çalışma başladıktan sonra her hafta tüm gruplardaki farelerin davranışları değerlendirilerek aşağıdaki tabloya göre birer sayı değeri verildi.

Tablo 2.1. Ludolph Hareket Analizi Skalası (114).

Davranış	Sayı
Normal davranış	0
Arka bacaklardaki hafif bir aksaklıktan dolayı yer değiştirmede genel bir yavaşlama	1
Hareketlerde düzensizlik ve yürüyüşte anormallikler	2
Arka bacakta felç	3
Ön ve arka bacakta felçten dolayı hareket etmede güçlük	4
Sırt üstü yatma	5

2.2.4.2. Motor Aktivite Tayini

Çalışma başladıktan sonra gruplardaki tüm farelerde her hafta motor aktiviteyi belirlemek için, PH'nın spesifik semptomlarından bradikinezi değerlendirildi. Bradikinezinin derecesini ölçmek için küçük modifikasyonlara uğratılmış (105) olan Ogawa ve arkadaşlarının (127) 'Pole Test = Çubuk Testi' metodu kullanıldı.

2.2.5. Biyokimyasal Analizler

2.2.5.1. Plazma ve Doku Total Antioksidan ve Total Oksidan Kapasite Analizi

Plazma ve beyin dokusu TAK ve TOK analizleri, Erel'in geliştirdiği yöntemle göre yapıldı (60, 61).

2.2.5.1.1. Total Antioksidan Kapasite Analizi

Prensip: Bu test, mavi-yeşil renkli ABTS radikal katyonunun renk kaybı prensibine dayanmaktadır. Numunedeki antioksidan moleküller, mavi-yeşil renkteki ABTS radikalini renksiz ABTS formuna indirgerler ve karakteristik renginin kaybına neden olurlar. Spektrofotometrede 660 nm'deki absorban değişikliği örnekteki antioksidan miktarı ile ilişkilidir. Vitamin E analogu olan Trolox Equivalent adlı standart antioksidan solüsyonu ile kalibre edilir. Sonuçlar, mmol Trolox equiv./L olarak belirtilir.

Kullanılan Reaktif ve Standartlar

Reaktif	1:	Test tamponu
Reaktif	2:	Renklendirilmiş ABTS [2,2'-azino-bis(3-etil benzthiazoline-6-sülfonik asit)] radikal solüsyonu
Standart	1:	0.0 mmol Trolox Equiv./L (Kör solüsyonu)
Standart	2:	1.0 mmol Trolox Equiv./L solüsyonu

Tablo 2.2. Total Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi

	1.Okuma		2.Okuma
Std1	Mikroplağa 200 µl reaktif 1 + 12 µl Std 1 koy		Mikroplak üzerine 30 µl reaktif 2 ekle Oda ısısında 10 dakika inkübasyon,
Std 2	Mikroplağa 200 µl reaktif 1 + 12 µl Std 2 koy		Mikroplak üzerine 30 µl reaktif 2 ekle Oda ısısında 10 dakika inkübasyon,
Örnek	Mikroplağa 200 µl reaktif 1+ 12 µl Örnek koy		Mikroplak üzerine 30 µl reaktif 2 ekle Oda ısısında 10 dakika inkübasyon,
	Absorbans 1 (660 nm) oku		Absorbans 2 (660 nm) oku

Sonuçların Hesaplanması;

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Örn})]}{[(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Std2})]}$$

Δ Standart 1'in absorbanı = (Std 1'in ikinci absorbanı - Std 1'in ilk absorbanı)

Δ Standart 2'nin absorbanı = (Std 2'in ikinci absorbanı - Std 2'in ilk absorbanı)

Δ Örn. absorbanı = (Örn. ikinci absorbanı – Örn. ilk absorbanı)

2.2.5.1.2. Total Oksidan Kapasite Analizi

Prensip: Örnekte bulunan oksidanlar, ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyonla oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar, asidik ortamda xilenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Sonuçlar hidrojen peroksit ile kalibre edilir ve sonuç $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L olarak ölçülür.

Kullanılan Reaktif ve Standartlar

Reaktif	1:	Test tamponu (50 ml x1)
Reaktif	2:	Prokromojen solüsyonu (10 ml x 1)
Standart	1:	Kör solüsyonu (deiyonize su)
Standart	2:	Stabilize edilmiş standart stok solüsyonu (SSSS) (800 mM H_2O_2 Equiv./L, 10 ml x1)

Stok solüsyondan 50 μl alındı ve 10 ml deiyonize su ile karıştırıldı. Bu solüsyondan 50 μl alınarak, 10 ml deiyonize su ile karıştırılıp vortekslendi. Bu şekilde standart 2 stok solüsyonu 40.000 kat sulandırılmış oldu. Bu çalışma solüsyonu günlük olarak hazırlandı.

Tablo 2.3. Total Oksidan Kapasite (TOK) Analizi

	1.Okuma		2.Okuma
Std 2	Mikroplağa 300 µl reaktif 1 + 45 µl Std 2 ekle		Mikroplak üzerine 15 µl reaktif 2 ekle Oda ısısında 10 dakika inkübasyon
Örnek	Mikroplağa 300 µl reaktif 1 + 45 µl örnek ekle		Mikroplak üzerine 15 µl reaktif 2 ekle Oda ısısında 10 dakika inkübasyon
	Absorbans 1 (530 nm) oku		Absorbans 2 (530 nm) oku

Sonuçların Hesaplanması;

Sonuç = $[(\Delta\text{Abs Örn.}) / (\Delta\text{Abs Std2})] \times 20$ (Std 2 değeri)

$\Delta\text{Abs Örn.}$ = Örneğin ikinci absorbansı – örneğin ilk absorbansı

$\Delta\text{Abs Std2}$ = Standart 2'nin ikinci absorbansı – standart 2'nin ilk absorbansı

Std 2 değeri = 20 µmol H₂O₂ Equiv./L

2.2.5.2. Plazma ve Doku Paraoksonaz Aktivite Analizi

Paraoksonaz aktivitesi, Eckerson (54) ve Gülcü'nün (78) metodlarına göre analiz edildi.

Prensip: Substrat olarak kullanılan paraoksonun (0,0-dietil-0-p-nitrofenilfosfat), PON1 tarafından hidrolizi sonucu açığa çıkan p-nitrofenolün 25 °C'de spektrofotometrik olarak 412 nm'de absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır. PON1 aktivitesi, p-nitrofenol için belirlenmiş olan molar absorpsiyon katsayısı ve deneyde yapılan dilüsyonlar göz önüne alınarak U/L olarak hesaplandı. Paraoksonaz aktivitesi için 1 µmol paraoksonu 1 dakikada p-nitrofenol'e dönüştüren enzim aktivitesi Ünite (U) olarak tanımlanmıştır (54).

Deneyde Kullanılan Çözeltiler

- a- HCl çözeltisi (0.1 M) (a):** 10 ml'lik 1 M HCl çözeltisinin hacmi, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
- b- Tris Çözeltisi (0.1 M) (b):** 1.21 g tris, distile suda çözüldü ve hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
- c- Tris-HCl Tamponu (20 mM, pH: 8):** 29 mL a çözeltisi ile 50 ml b çözeltisi karıştırılarak, pH'sı 8'e ayarlandı. pH'sı 8 ayarlanan karışımın hacmi, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
- d- Çalışma Ayırıcı [kalsiyum klorür (2 mM)-paraokson (2 mM)]:** 29.4 mg kalsiyum klorür ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), bir miktar tris-HCl tamponunda çözüldü. Üzerine 1.5 ml asetonda çözülen, 44 µl paraokson eklenerek tris-HCl tamponu ile hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
- e- Aseton:** Normal saflıktaki aseton şişesinden alınarak kullanıldı.

Deneyin Yapılışı:

Numune ve kör kuyucuklarına 280 µl çalışma ayırıcı konulur. Daha sonra kör kuyucuğuna 8 µl distile su, numune kuyucuğuna ise 8 µl plazma ilave edilir. 25°C'de, 2 dk boyunca köre karşı numunenin 412 nm'deki absorbans artışı ölçülür ($\Delta A/\text{dk}$: dakikadaki absorbans farkı).

$$U/L (\mu\text{mol}/\text{dk}/L) = \frac{\Delta A/\text{dk} \times SF \times 10^6}{\epsilon \times 1/0.6}$$

$\Delta A/\text{dk}$: Bir dakikadaki absorbans değişimi

ϵ : p-nitrofenolün molar absorbsiyon katsayısı, mevcut deney şartları için 18290

SF : Seyreltme faktörü (Total hacim/Numune hacmi)

10^6 : µmole çevirme faktörü

1/0.6 : Plate ışık yolunun uzunluğu

2.2.5.3. Plazma Total Kolesterol, Trigliserit, HDL, LDL ve VLDL Analizleri

Plazma total kolesterol, trigliserit, HDL, LDL seviyeleri ticari kitler kullanılarak otomatik analizörde (Huma Star 600, Germany) analiz edildi. VLDL seviyeleri Friedewald formülü [Trigliserit (mg/dl) <400 mg/dl ise VLDL (mg/dl)= Trigliserit (mg/dl)/5] kullanılarak hesaplandı (12).

2.2.5.4. Plazma ve Doku Total Sialik Asit Analizi

Deneyde Kullanılan Çözeltiler

a- %5'lik Perklorik Asit Çözeltisi (V/V): 7.04 ml Perklorik asit alınarak bir miktar distile su ile çözüldü ve hacmi 100 ml'ye tamamlandı.

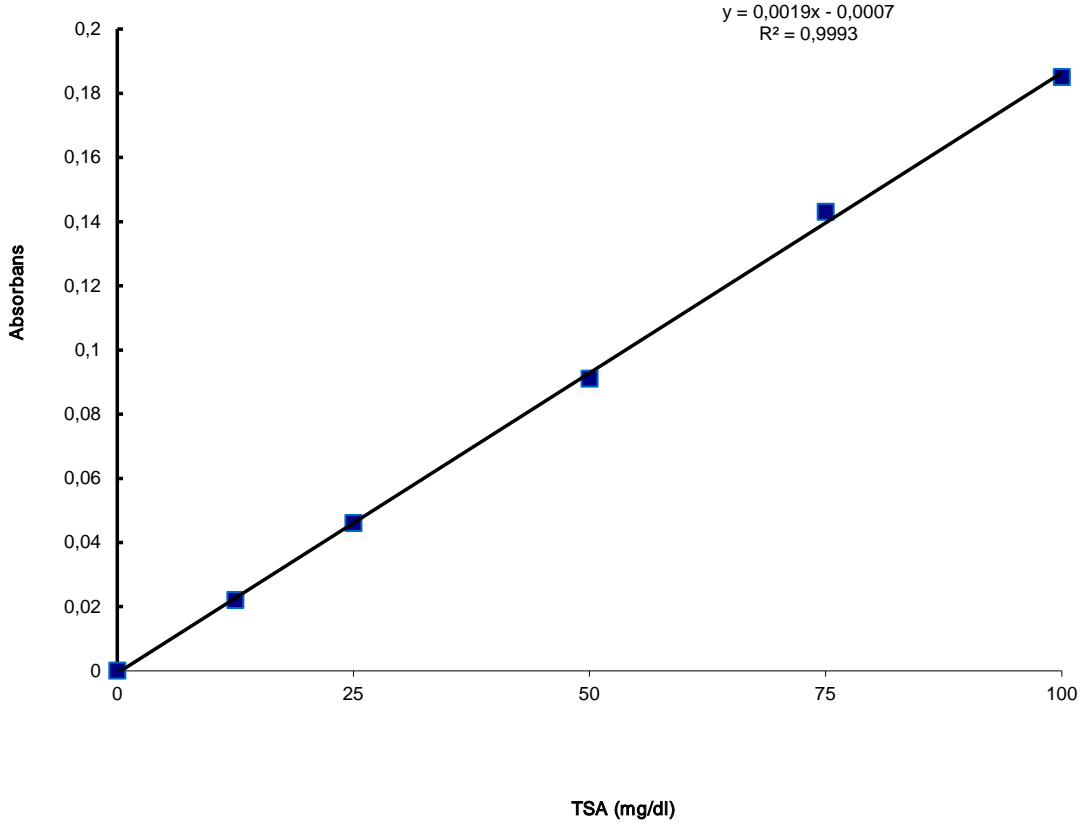
b- Ehrlich Ayracı: 5 gr p-dimetilaminobenzaldehit 50 ml yoğun HCl içerisinde çözüldü ve üzerine 50 ml distile su ilave edilerek hacmi 100 ml'ye tamamlandı (Ehrlich ayracı, her analiz den önce taze olarak hazırlandı).

TSA Analizinin Yapılışı

TSA analizi Sydow'un (161) metodu kullanılarak yapıldı. 0.2 ml plazma üzerine 1.5 ml perklorik asitten ilave edildi. 100 °C'de 5 dakika kaynatıldı ve soğutuldu. Tüpün dibinde oluşan tortu 2500 rpm'de 4 dk santrifüj edildi. Süpernatant'tan 1 ml alınarak diğer temiz tüplere aktarıldı. Üzerine 0.2 ml Ehrlich ayracı ilave edilerek 100 °C'da 15 dakika kaynatıldı. Kaynatma işleminden sonra tüpler tekrar soğutuldu ve 1 ml distile su ilave edilerek 525 nm'de optik dansiteleri (OD), spektrofotometrik olarak okundu. Elde edilen OD'ler hazırlanan standart eğriden değerlendirildi (161).

TSA için Standart Eğrisinin Hazırlanışı

NANA (Sigma) standardından, 100 mg/dl stok standart çözeltisi hazırlandı. Stok standart çözülden; 75, 50, 25 ve 12.5 mg/dl konsantrasyonlarında dilüsyonlar yapıldı. Elde edilen standart dilüsyonların her biri için, 3 tüp hazırlanarak metot uygulandı ve OD'leri okundu. Elde edilen OD'lerin ortalama değerleri alınarak standart eğri oluşturuldu ve bu standart eğriden örneklerin TSA değerleri hesaplandı. Standart eğrinin hazırlanmasında, her bir dilüsyon için elde edilen kalibrasyon eğrisi Grafik 2.1'de gösterilmiştir.



Grafik 2.1. TSA standart grafiği.

2.2.6. Histopatolojik İncelemeler

Çalışmanın sonunda ötenazi edilen deney hayvanlarının histopatolojik incelemeleri için ayrılan ve buz üzerinde izole edilen beyin dokusuna ait “substantia nigra”ları derhal alınarak %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonu içerisinde, bir gece bekletilerek tespit edildi. Tespit edilen dokular, rutin işlemlerden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında doku kesitleri alınarak Hematoksilen-Eosin (H.E.) ile boyanmak suretiyle ışık mikroskopunda incelendi. İncelenen dokuların mikroskobik resimleri çekildi.

2.2.7. İstatistiksel Hesaplamalar

Çalışmada elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri, SPSS 16.0 for Windows İstatistik Paket Programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasında anlamlı ilişki olup olmadığı, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile belirlendi. İstatistiksel olarak farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için çoklu karşılaştırma (*post hoc*) analiz testlerinden, Tukey testi kullanıldı. Gruplar arası negatif (-) ya da pozitif (+) ilişkinin araştırılması için korelasyon analizi yapıldı. Sonuçlar ortalama ± standart sapma ($X \pm SD$) şeklinde belirtildi.

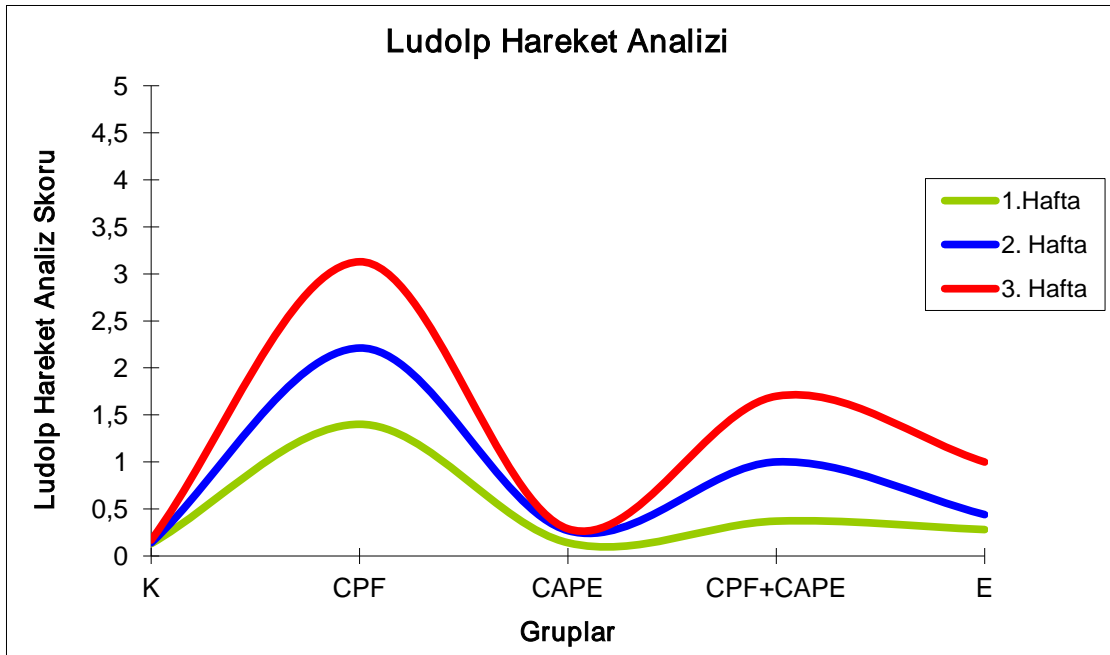
3. BULGULAR

3.1. Deney Süresince Hayvanlarda Gözlemlenen Değişimlerin Takibi

3.1.1. Genel Hareketlerin İzlenmesi (Ludolph Hareket Analizi)

Bütün gruplardaki farelerin Ludolph Hareket Analizi (genel hareketlerin değerlendirilmesi) sonuçları, deney süresinin 1. hafta, 2. hafta ve 3. hafta arasındaki karşılaştırılmasının istatistiksel olarak anlamlı ($P < 0.001$) fark gösterdiği tespit edildi (Grafik 3.1).

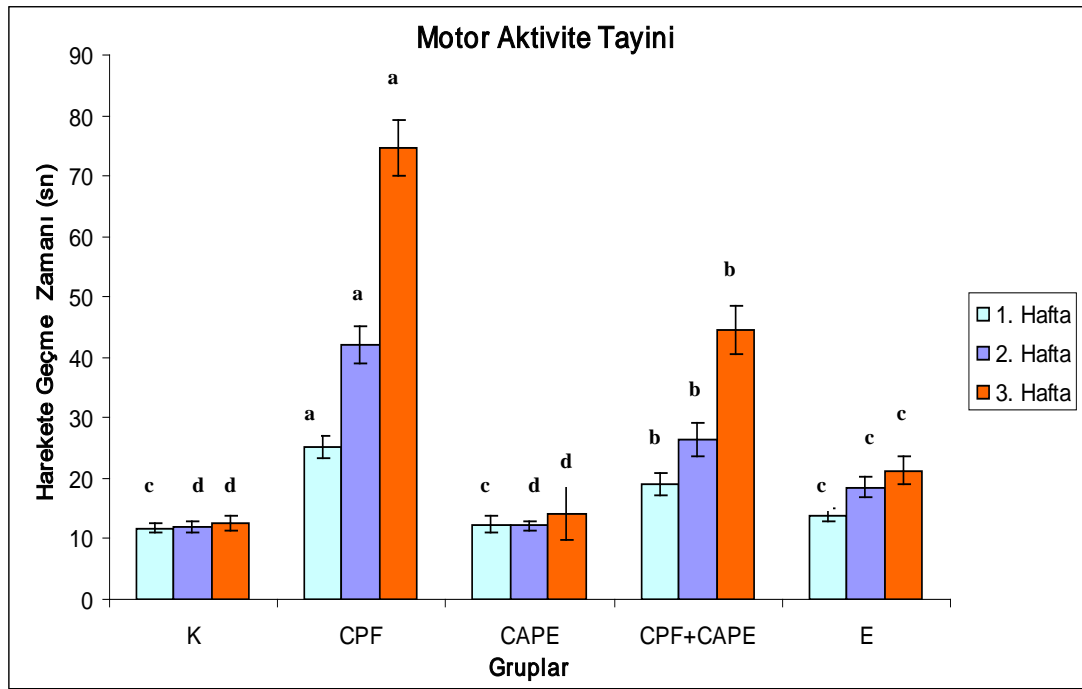
CPF uygulanan grupta, 1. haftada tüm farelerin genel davranışlarında bir yavaşlama ve yer değiştirmede zorlanmalar gözlemlenirken, CPF+CAPE grubunda ise bazı farelerin davranışlarında yavaşlama olsa da CPF grubundaki kadar değildi. 2. haftada CPF uygulanan grupta, anormal davranışlar ve yürümede zorluklar gözlenirken, 3. haftada, arka ayakta felç benzeri belirtiler ve yürümede zorluklardan dolayı besin ve suya ulaşmada zorlanmalar gözlemlendi. CPF+CAPE grubunda ise belirtiler CPF grubuna göre daha hafifti. K, CAPE ve E grubunda ise Ludolph Hareket Analizi skalasına göre hareketlerin normal olduğu tespit edildi.



Grafik 3.1. Gruplar arası Ludolph Hareket Analizi Skalası değişimleri

3.1.2. Motor Aktivite Tayini

Motor aktivite tayini için, çubuk testi ile değerlendirilen harekete geçme zamanı aşağıda Grafik 3.2’de gösterildi. Buna göre 1. Haftada, CPF ve CPF+CAPE grubunda, diğer gruplara göre önemli derecede istatistiksel fark ($P < 0.001$) gözlemlendi. 2. ve 3. haftada ise CPF, CPF+CAPE ve E gruplarında, K ve CAPE gruplarına göre istatistiksel olarak fark ($P < 0.001$) gözlemlenmiş olup, harekete geçme zamanının CPF grubunda daha fazla uzadığı tespit edildi.



Grafik 3.2. Gruplar arası motor aktivite değişimleri

3.2. Biyokimyasal Parametreler

Plazma total kolesterol, trigliserit, HDL, LDL, VLDL, PON1 aktivitesi, TAK, TOK, TSA seviyeleri ile beyin PON1 aktivitesi, TAK, TOK ve TSA seviyeleri analiz sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar Tablo 3.1’de, plazma K grubu ile CPF, CAPE, CPF+CAPE ve E grubu farelerde biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar Tablo 3.2’de ve beyin dokusu K grubu ile CPF, CAPE, CPF+CAPE ve E grubu farelerde biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar Tablo 3.3’de verildi.

Tablo 3.1. Plazma ve beyin dokusu biyokimyasal parametre sonuçları ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar
(ortalama±standart sapma (X±SD))

PARAMETRELER	GRUPLAR				
	K	CPF	CAPE	CPF+CAPE	E
Total kolesterol (mg/dl)	100±2 ^c	116±3 ^a	93±4 ^d	110±3 ^b	103±4 ^c
Trigliserit (mg/dl)	73±3 ^b	85±4 ^a	64±5 ^c	79±4 ^{a,b}	75±4 ^b
HDL (mg/dl)	50±1 ^a	33±3 ^b	54±4 ^a	37±3 ^b	50±3 ^a
LDL (mg/dl)	35±1 ^d	63±3 ^a	27±2 ^e	55±2 ^b	38±2 ^c
VLDL (mg/dl)	15±1 ^b	17±1 ^a	13±1 ^c	16±1 ^{b,c}	15±1 ^b
Plazma PON1 (U/L)	81.99±4.02 ^{a,b}	37.62±3.44 ^d	85.70±3.11 ^a	61.75±3.96 ^c	80.14±2.20 ^b
Plazma TAK (mmol Trolox eq/L)	1.25±0.07 ^a	0.75±0.07 ^d	1.27±0.04 ^a	1.00±0.03 ^c	1.13±0.08 ^b
Plazma TOK (µmol H₂O₂ eq/L)	9.26±0.70 ^c	16.20±0.86 ^a	8.98±0.77 ^c	12.06±0.72 ^b	9.36±0.38 ^c
Plazma TSA (mg/dl)	68.75±5.24 ^b	81.81±5.25 ^a	68.67±3.51 ^b	74.68±3.26 ^b	69.40±3.96 ^b
Beyin PON1 (U/g yaş doku)	3.55±0.28 ^b	1.81±0.18 ^d	3.87±0.13 ^a	3.09±0.14 ^c	3.43±0.14 ^b
Beyin TAK (mmol Trolox eq/L g yaş doku)	1.10±0.09 ^b	0.75±0.08 ^c	1.26±0.05 ^a	1.06±0.05 ^b	1.10±0.04 ^b
Plazma TOK (µmol H₂O₂ eq/L g yaş doku)	8.50±0.41 ^c	15.85±0.69 ^a	8.46±0.40 ^c	11.92±0.50 ^b	8.82±0.36 ^c
Beyin TSA (mg/g yaş doku)	0.32±0.04 ^{c,d}	0.43±0.04 ^a	0.30±0.05 ^d	0.38±0.04 ^{a,b}	0.33±0.03 ^{c,d}

a, b, c, d, e : Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılık önemlidir (P < 0.001).

Tablo 3.2. Plazma K grubu ile CPF, CAPE, CPF+CAPE ve E grubu farelerde biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar

	TAK	TOK	TSA	PON1	T.Kolesterol	Trigliserit	HDL	LDL	VLDL
TAK		-0.909*	-0.745*	0.948*	-0.870*	-0.796*	0.842*	-0.915*	-0.796*
TOK			0.776*	-0.959*	0.822*	0.740*	-0.861*	0.889*	0.740*
TSA				-0.779*	0.586*	0.576*	-0.763*	0.738*	0.567*
PON1					-0.861*	-0.747*	0.886*	-0.927*	-0.747*
T.Kolesterol						0.845*	-0.741*	0.913*	0.845*
Trigliserit							-0.748*	0.829*	1.000*
HDL								-0.931*	-0.748*
LDL									0.829*
VLDL									

*: Korelasyon $P < 0.01$ düzeyinde önemlidir.

Tablo 3.3. Beyin K grubu ile CPF, CAPE, CPF+CAPE ve E grubu farelerde biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar

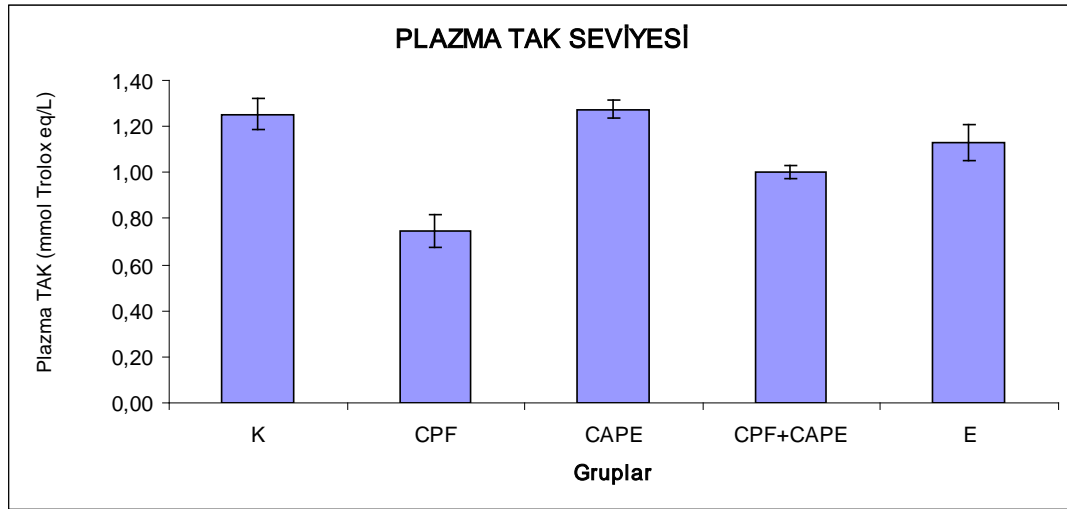
	TAK	TOK	TSA	PON1
TAK		-0.868*	-0.751*	0.895*
TOK			0.806*	-0.931*
TSA				-0.760*
PON1				

*: Korelasyon $P < 0.01$ düzeyinde önemlidir

3.2.1.Total Antioksidan ve Total Oksidan Kapasite Seviyeleri

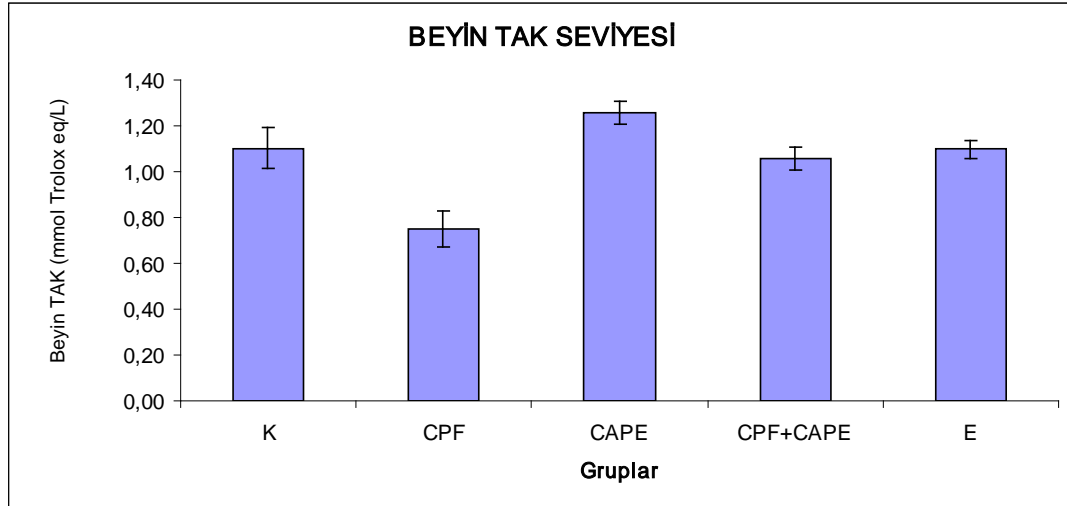
3.2.1.1. Plazma ve Beyin Total Antioksidan Kapasite Seviyeleri

Plazma TAK seviyeleri gruplar arasında karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak önemli ($P<0.001$) bir fark tespit edildi. CPF uygulanan grupta plazma TAK seviyesi anlamlı derecede ($P<0.001$) azalırken, CPF+CAPE ve E gruplarında CAPE ve K gruplarına göre daha düşük bulundu (Tablo 3.1 ve Grafik 3.3). Plazma TAK seviyesi ile plazma TOK, TSA, total kolesterol, trigliserit, LDL ve VLDL seviyeleri arasında $P<0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r= 0.909$, $r= 0.745$, $r=0.870$, $r=0.796$, $r=0.915$, $r=0.796$), plazma PON1 aktivitesi ve HDL seviyesi ile arasında $P<0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon (sırasıyla $r= 0.948$, $r= 0.842$) bulundu (Tablo 3.2).



Grafik 3.3. Deney grupları plazma TAK sonuçları

Beyin dokusu TAK seviyesi gruplar arasında kıyaslama yapıldığında, kontrol grubuna göre CPF uygulanan grupta TAK seviyesinin istatistiksel olarak önemli ölçüde azaldığı ($P<0.001$) tespit edildi (Tablo 3.1 ve Grafik 3.4). Beyin dokusu TAK seviyesi ile TOK ve TSA seviyeleri arasında $P<0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r= 0.868$, $r= 0.751$), beyin PON1 aktivitesi ile arasında $P<0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon ($r= 0.895$) bulundu (Tablo 3.3).

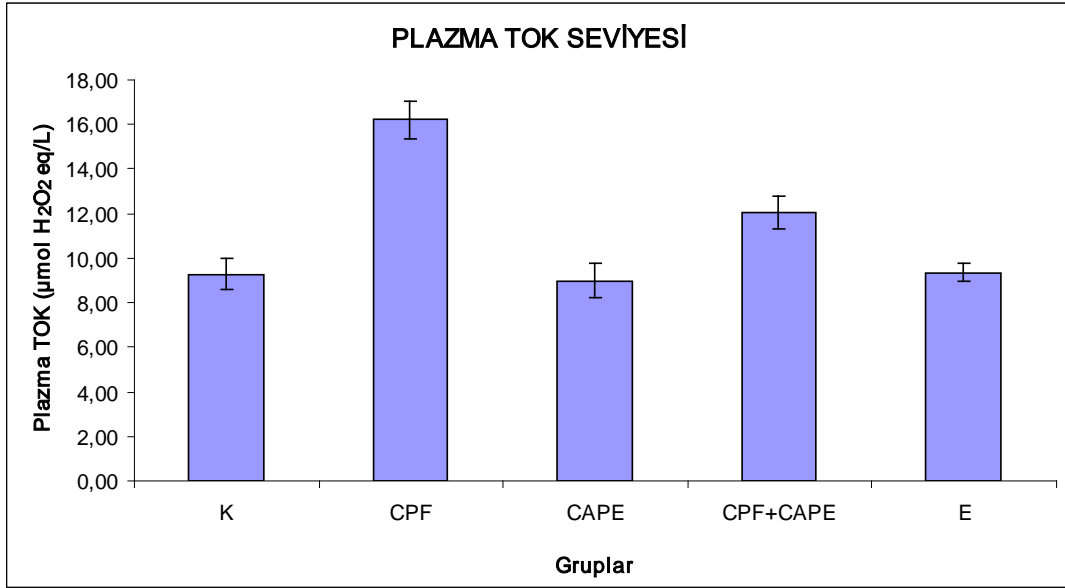


Grafik 3.4. Deney grupları beyin TAK sonuçları

3.2.1.2. Plazma ve Beyin Total Oksidan Kapasite Seviyeleri

Plazma TOK seviyeleri karşılaştırıldığında, en fazla farkın CPF uygulanan grup ile K, CAPE ve E grupları arasında olduğu, CPF uygulanan grupta TOK seviyesinde kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($P<0.001$) olduğu tespit edildi. Ayrıca CPF+CAPE grubunda da TOK seviyesinin CPF grubuna göre daha düşük ($P<0.001$) olduğu, ancak diğer gruplara göre daha yüksek ($P<0.001$) olduğu tespit edildi (Tablo 3.1 ve Grafik 3.5).

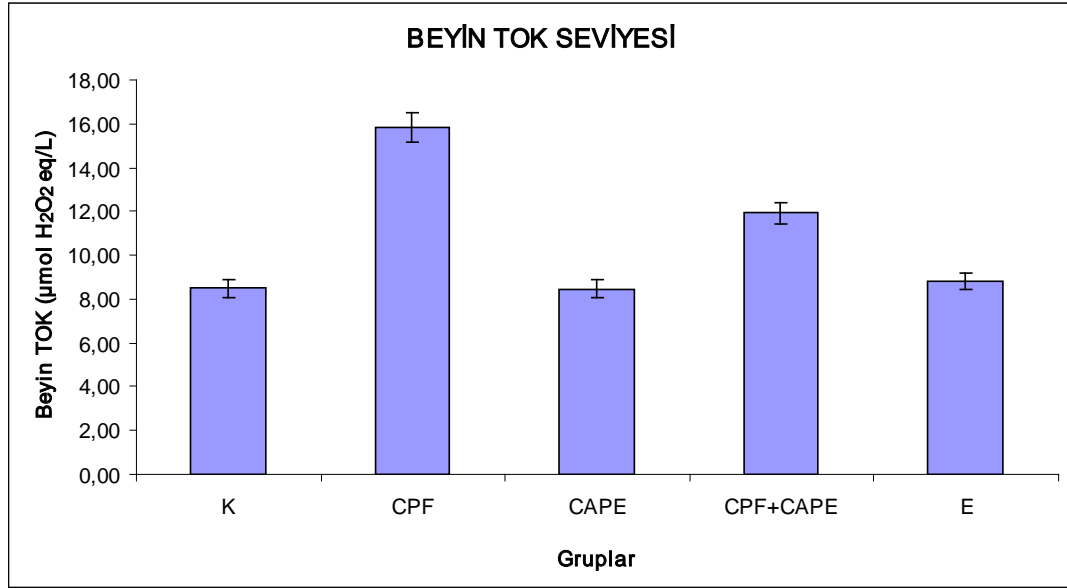
Plazma TOK seviyesi ile plazma TAK, PON1 aktivitesi ve HDL seviyesi arasında $P<0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r= 0.909$, $r= 0.959$, $r=0.861$), plazma TSA, total kolesterol, trigliserit, LDL ve VLDL seviyeleri arasında $P<0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon (sırasıyla $r= 0.776$, $r= 0.822$, $r=0.740$, $r=0.889$, $r=0.740$) bulundu (Tablo 3.2).



Grafik 3.5. Deney grupları plazma TOK sonuçları

Beyin dokusu TOK seviyesi gruplar arası kıyaslama yapıldığında, CPF uygulanan grupta TOK seviyesinde kontrole grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($P<0.001$) olduğu tespit edildi. Ayrıca CPF+CAPE grubunda da TOK seviyesinin CPF grubuna göre biraz daha düşük olduğu, ancak diğer gruplara göre daha yüksek ($P<0.001$) olduğu tespit edildi (Tablo 3.1 ve Grafik 3.6).

Beyin dokusu TOK seviyesi ile TAK ve PON1 aktivitesi arasında $P<0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r= 0.868$, $r= 0.931$), beyin TSA seviyesi ile arasında $P<0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon ($r= 0.806$) bulundu (Tablo 3.3).

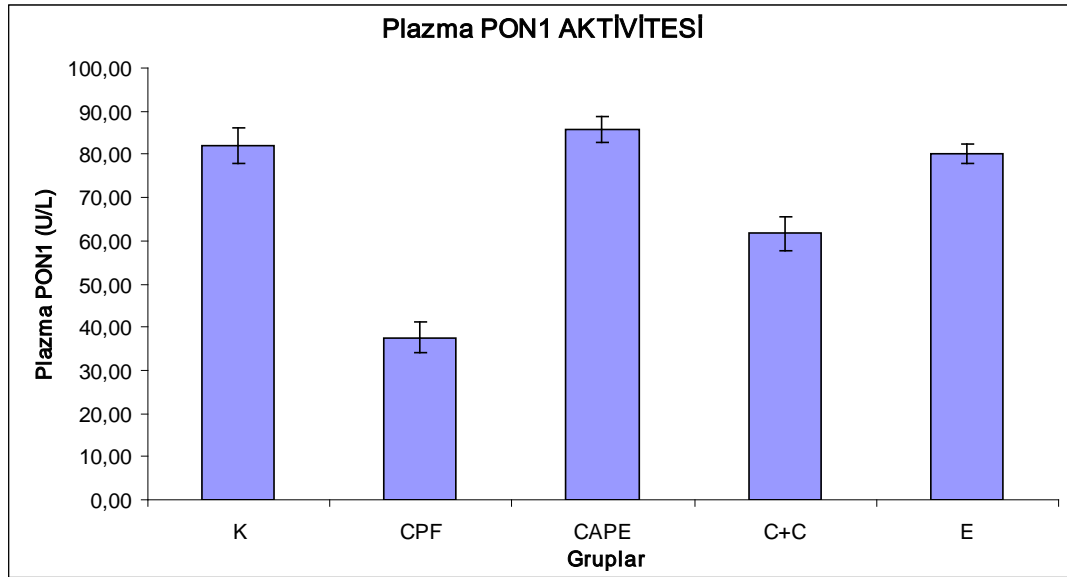


Grafik 3.6. Deney grupları beyin TOK sonuçları

3.2.2. Plazma ve Beyin Paraoksonaz (PON1) Aktivitesi

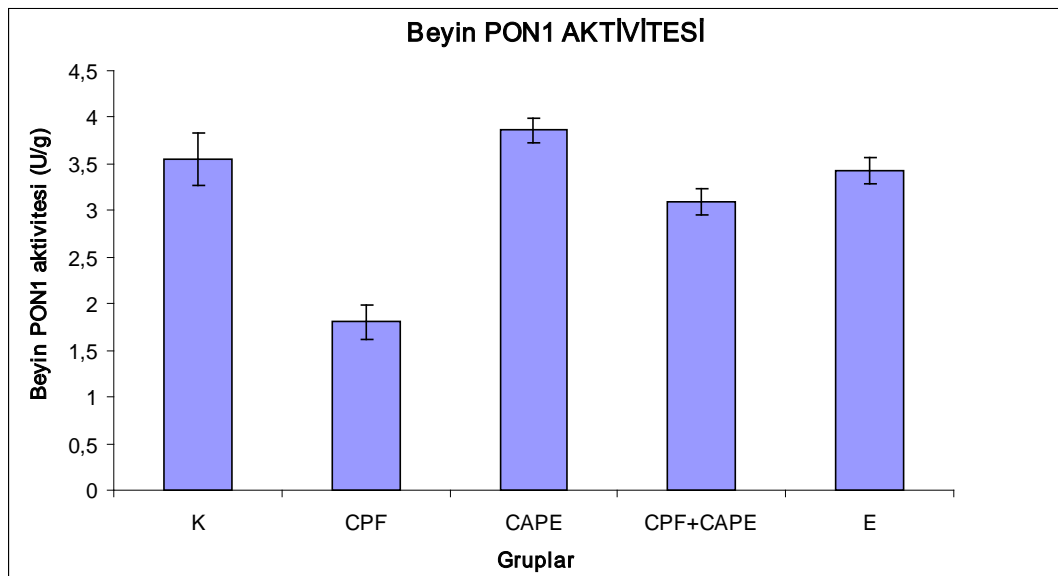
Plazma PON1 aktivitesi gruplar arasında kıyaslama yapıldığında, CPF uygulanan grupta kontrol grubuna göre PON1 aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir azalmanın ($P<0.001$) olduğu tespit edilmiş olup, CPF+CAPE grubunda ise PON1 aktivitesinin CPF grubuna göre daha yüksek ($P<0.001$) olduğu tespit edildi (Tablo 3.1 ve Grafik 3.7).

Plazma PON1 aktivitesi ile plazma TOK, TSA, total kolesterol, trigliserit, LDL ve VLDL seviyeleri arasında $P<0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r=0.959$, $r=0.779$, $r=0.861$, $r=0.747$, $r=0.927$, $r=0.747$), plazma TAK ve HDL seviyeleri arasında $P<0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon (sırasıyla $r=0.948$, $r=0.842$) bulundu (Tablo 3.2).



Grafik 3.7. Deney grupları plazma PON1 aktivite sonuçları

CPF uygulanan grupta beyin dokusu PON1 aktivitesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalmanın ($P < 0.001$) olduğu, CPF+CAPE grubunda ise PON1 aktivitesinin CPF grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 3.1 ve Grafik 3.8). Beyin dokusu PON1 aktivitesi ile TOK ve TSA seviyeleri arasında $P < 0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r = 0.931$, $r = 0.760$), beyin TAK seviyesi ile arasında $P < 0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon ($r = 0.895$) bulundu (Tablo 3.3).



Grafik 3.8. Deney grupları beyin PON1 aktivite sonuçları

3.2.3. Plazma Total Kolesterol, Trigliserit, HDL, LDL ve VLDL Seviyeleri

Çalışmada plazma lipid profili bakımından gruplar arasında kıyaslama yapıldığında, CPF uygulanan grupta plazma total kolesterol seviyesi diğer gruplara göre yüksek ($P<0.001$) olup, en fazla fark ise CPF grubu ile CAPE grubu arasında bulundu. Plazma total kolesterol seviyesi bakımından K ve E grubu arasında istatistiksel bir fark saptanmazken, CPF+CAPE grubunda ise K ve E grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artış ($P<0.001$) olduğu saptandı (Tablo 3.1 ve Grafik 3.9). Plazma total kolesterol seviyesi ile plazma TAK, PON1 aktivitesi ve HDL seviyesi arasında $P<0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r= 0.870$, $r= 0.861$, $r=0.741$), plazma TOK, TSA, trigliserit, LDL ve VLDL arasında $P<0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon (sırasıyla $r= 0.822$, $r= 0.586$, $r=0.845$, $r=0.913$, $r=0.845$) bulundu (Tablo 3.2).

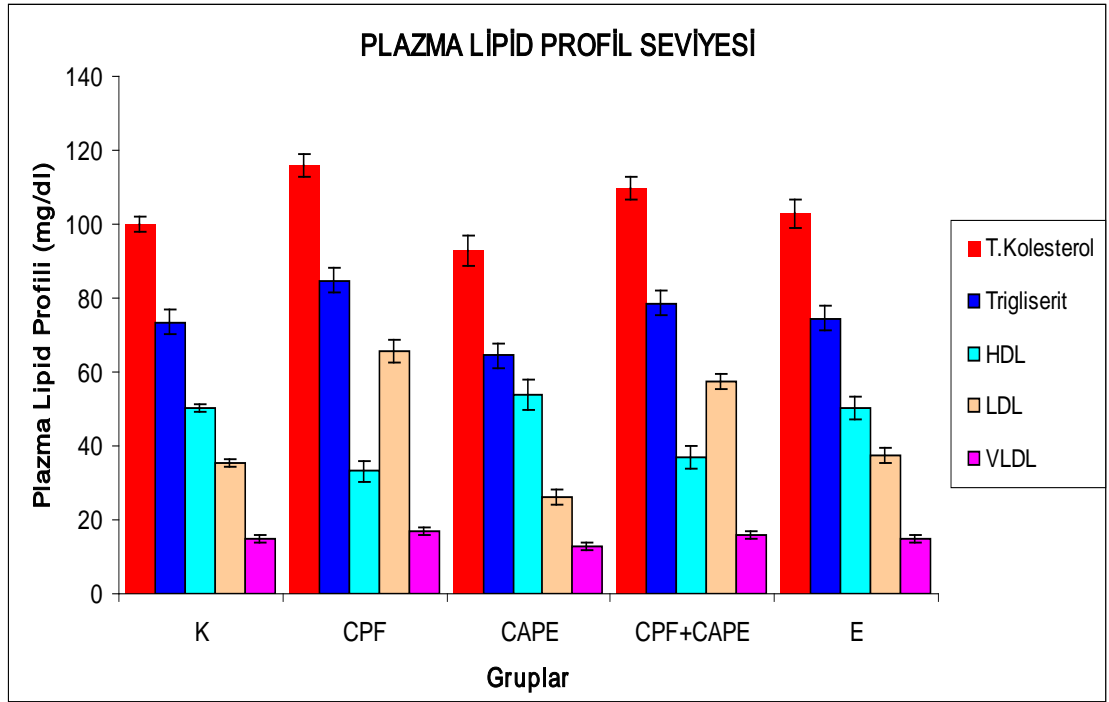
Trigliserit seviyeleri bakımından gruplar kıyaslandığında; CPF uygulanan grupta trigliserit seviyesi en yüksek iken, CAPE grubunda ise en düşük bulundu. Trigliserit seviyesi K ve E grubu arasında istatistiksel bir farklılık göstermezken, CPF+CAPE grubunda ise K ve E gruplarına göre istatistiksel olarak önemli ölçüde artış ($P<0.001$) gösterdiği tespit edildi (Tablo 3.1 ve Grafik 3.9). Plazma trigliserit seviyesi ile plazma TAK, PON1 aktivitesi ve HDL seviyesi arasında $P<0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r= 0.796$, $r= 0.747$, $r=0.748$), plazma TOK, TSA, total kolesterol, LDL ve VLDL seviyeleri arasında $P<0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon (sırasıyla $r= 0.740$, $r= 0.576$, $r=0.845$, $r=0.829$, $r=1.00$) bulundu (Tablo 3.2).

HDL seviyeleri bakımından gruplar kıyaslandığında; CPF ve CPF+CAPE grupları ile K, CAPE ve E grupları arasında istatistiksel olarak önemli ($P<0.001$) bir fark tespit edildi. CPF uygulanan grubun en düşük HDL seviyesine sahip olduğu CAPE grubunun ise en yüksek HDL seviyesine sahip olduğu tespit edildi. K ile E grubu arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmazken, CPF+CAPE grubunda ise K ve E grubuna göre HDL seviyesi biraz daha düşük saptandı (Tablo 3.1 ve Grafik 3.9).

Plazma HDL seviyesi ile plazma TOK, TSA, total kolesterol, trigliserit, LDL ve VLDL seviyeleri arasında $P<0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r=0.861$, $r= 0.763$, $r= 0.741$, , $r=0.931$, $r=0.748$), plazma TAK seviyesi ve PON1 aktivitesi arasında $P<0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon (sırasıyla $r=0.842$, $r=0.886$) bulundu (Tablo 3.2).

LDL seviyeleri bakımından gruplar kıyaslandığında; CPF uygulanan grup ile diğer gruplar arasında ve grupların kendi aralarında istatistiksel olarak önemli ($P<0.001$) bir fark tespit edildi. CPF uygulanan grubun en yüksek LDL, CAPE grubunun ise en düşük LDL seviyesine sahip olduğu saptandı (Tablo 3.1 ve Grafik 3.9). Plazma LDL ile TAK, PON1 aktivitesi ve HDL seviyesi arasında $P<0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r=0.915$, $r= 0.927$, $r= 0.931$), plazma TOK, TSA, total kolesterol, trigliserit ve VLDL seviyeleri arasında $P<0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon (sırasıyla $r=0.889$, $r= 0.738$, $r= 0.913$, , $r=0.829$, $r=0.829$) bulundu (Tablo 3.2).

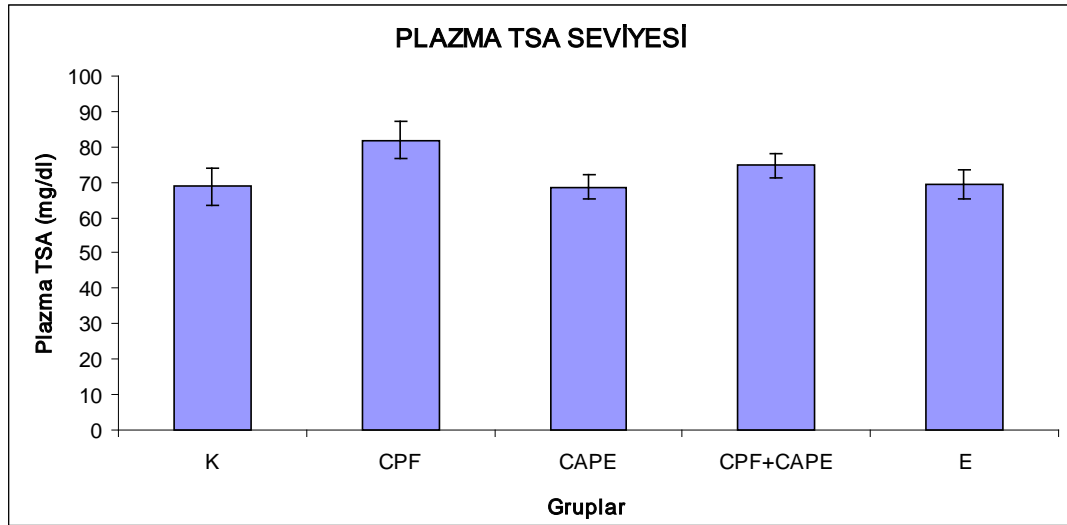
VLDL seviyeleri bakımından gruplar kıyaslandığında, CPF uygulanan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli ($P<0.001$) bir fark tespit edilirken, kontrol, ve CAPE arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir. Yine CPF+CAPE grubunda VLDL seviyesi CPF grubuna göre daha düşük saptandı (Tablo 3.1 ve Grafik 3.9). Plazma VLDL seviyesi ile plazma TAK, PON1 aktivitesi ve HDL seviyesi arasında $P<0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r=0.796$, $r= 0.747$, $r= 0.748$), plazma TOK, TSA, total kolesterol, trigliserit ve LDL seviyeleri arasında $P<0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon (sırasıyla $r=0.740$, $r= 0.567$, $r= 0.845$, $r=1.00$, $r=0.829$) bulundu (Tablo 3.2).



Grafik 3.9. Deney grupları plazma lipid profili sonuçları

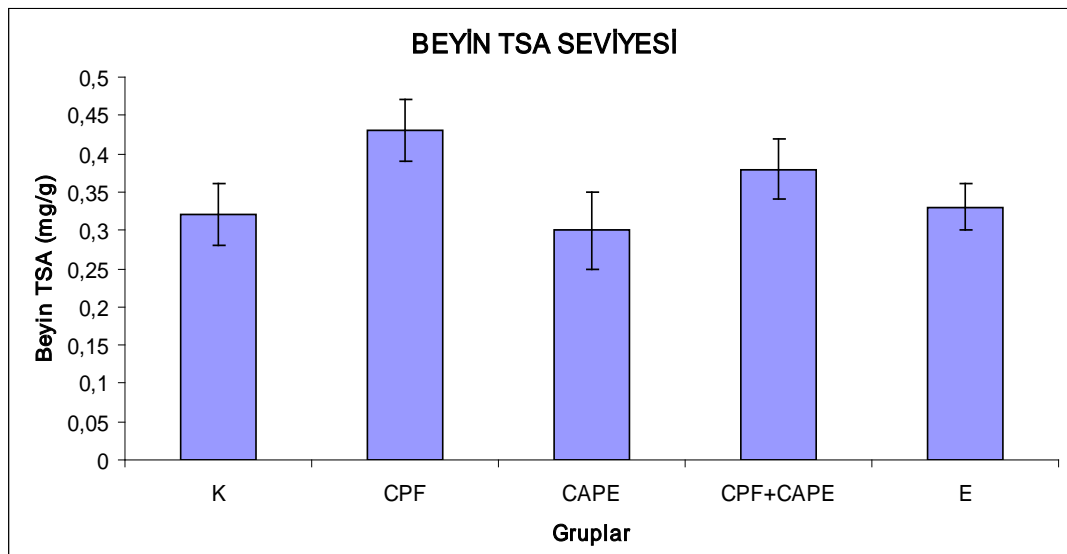
3.2.4. Plazma ve Beyin Total Sialik Asit (TSA) Seviyeleri

Plazma TSA seviyeleri bakımından gruplar arasında kıyaslama yapıldığında, CPF uygulanan grupta diğer gruplara göre istatistiksel olarak önemli ($P < 0.001$) bir artış olduğu tespit edildi. CPF+CAPE grubunda TSA seviyeleri, CPF grubuna göre daha düşük ($P < 0.001$), K, CAPE ve E gruplarına göre daha yüksek ($P < 0.001$) olduğu saptandı (Tablo 3.1 ve Grafik 3.10). Plazma TSA seviyesi ile plazma TAK, PON1 aktivitesi ve HDL seviyesi arasında $P < 0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r = 0.745$, $r = 0.779$, $r = 0.763$), plazma TOK, total kolesterol, trigliserit, LDL ve VLDL arasında $P < 0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon (sırasıyla $r = 0.776$, $r = 0.586$, $r = 0.576$, $r = 0.738$, $r = 0.567$) bulundu (Tablo 3.2).



Grafik 3.10. Deney grupları plazma TSA sonuçları

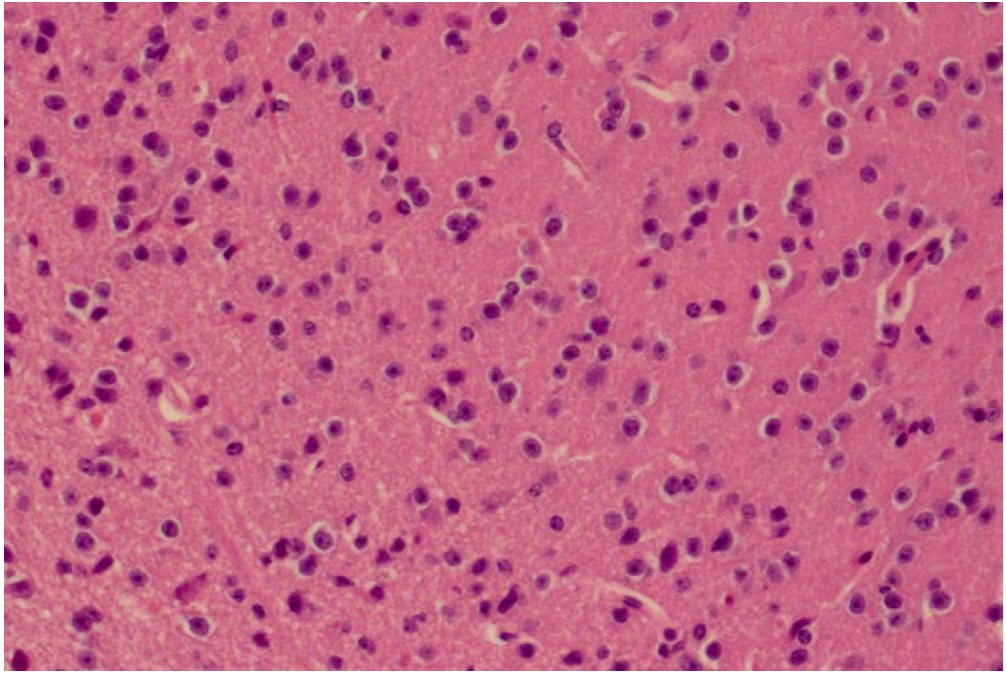
Beyin doku TSA seviyesi bakımından gruplar arasında kıyaslama yapıldığında, CPF uygulanan grup ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli ($P < 0.001$) fark tespit edilirken, TSA seviyesi bakımından istatistiksel olarak en fazla fark CPF grubu ile CAPE grubu arasında olduğu tespit edildi (Tablo 3.1 ve Grafik 3.11). Beyin dokusu TSA seviyesi ile TAK ve PON1 aktivitesi arasında $P < 0.01$ düzeyinde negatif (-) korelasyon (sırasıyla $r = 0.751$, $r = 0.760$), beyin TOK seviyesi ile arasında $P < 0.01$ düzeyinde pozitif (+) korelasyon ($r = 0.806$) bulundu (Tablo 3.3).



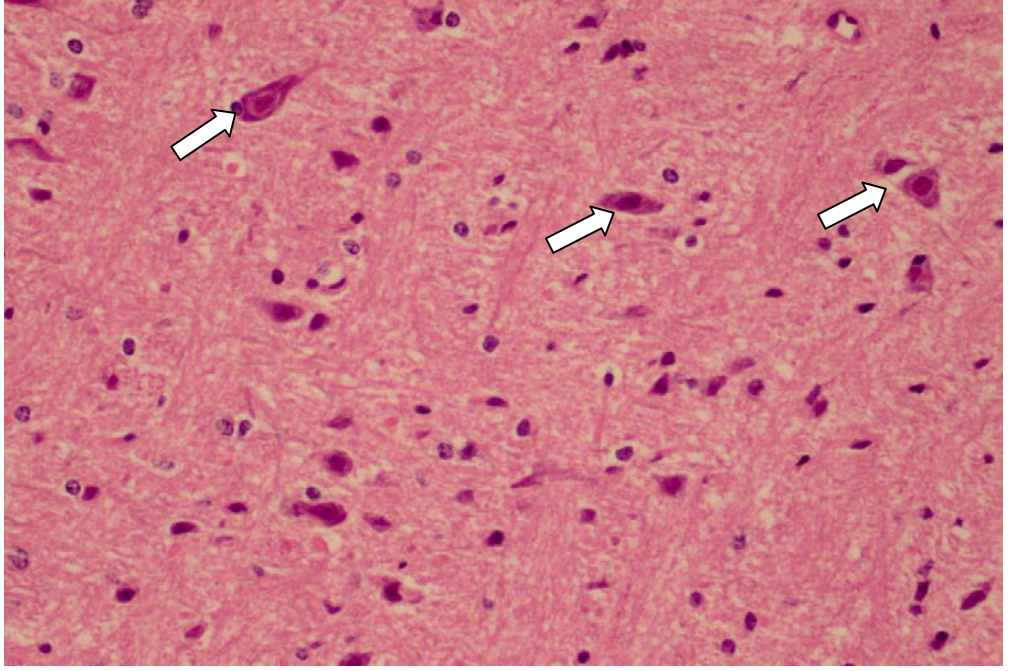
Grafik 3.11. Deney grupları beyin TSA sonuçları

3.3. Histopatolojik İncelemeler

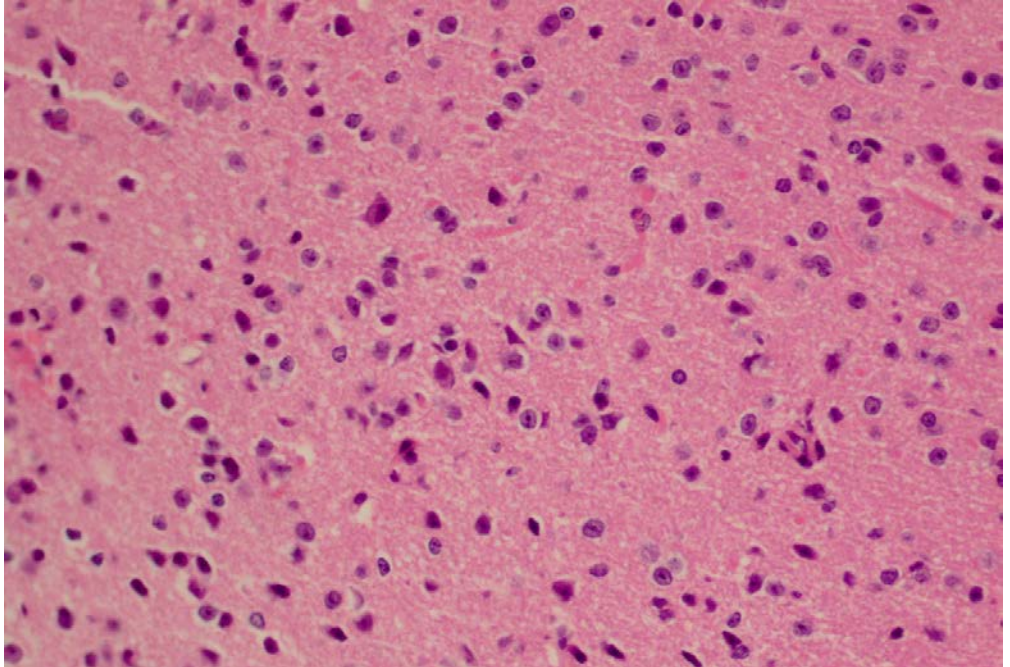
Histopatolojik incelemelerde K, CAPE ve E gruplarında herhangi bir histopatolojik değişikliğe rastlanmadı (Resim 3.1, 3.3 ve 3.5). CPF uygulanan farelerde beynin substantia nigra bölgesindeki nöronlarda dejenerasyon, bazılarında nörofaji ile az sayıda dejeneratif nöronda intrasitoplazmik yerleşimli, tekli ya da çoklu granüler yapılar halinde, kahverengi görünümde *Lewy body* olarak adlandırılan cisimciklere rastlandı (Resim 3.2). CAPE ile birlikte CPF verilen grupta ise sadece CPF verilen gruba göre dejeneratif nöronların sayısında ve şiddetinde azalma dikkati çekti. Ayrıca bu grupta *Lewy body* cisimciklerine rastlanmadı (Resim 3.4).



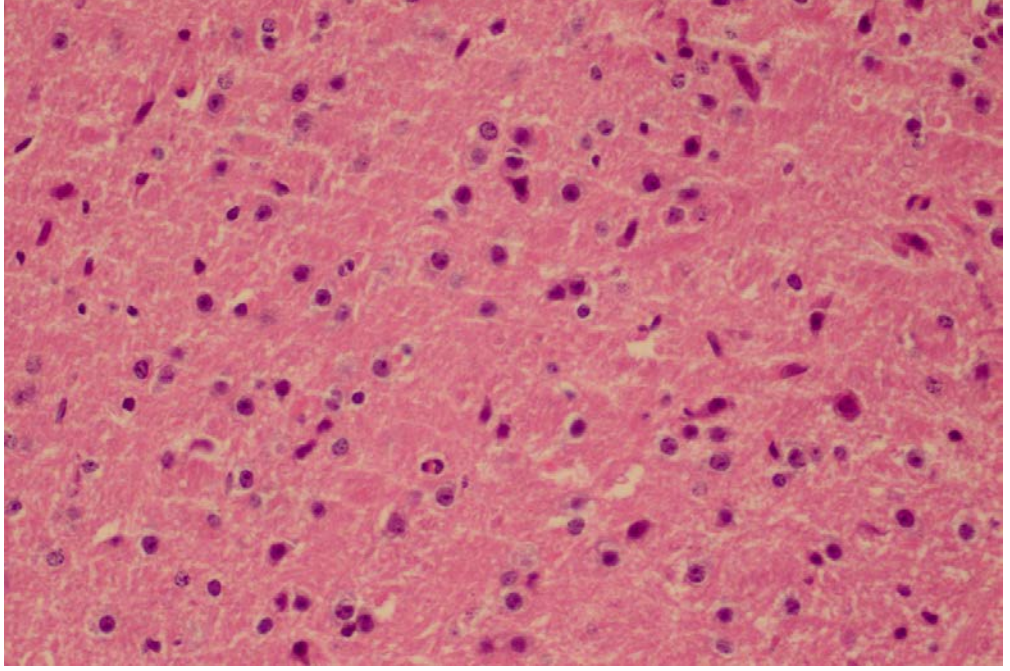
Resim 3.1. Kontrol grubu farelerin beyin substantia nigra bölgesinde nöronların normal görünümü (X 20, H&E).



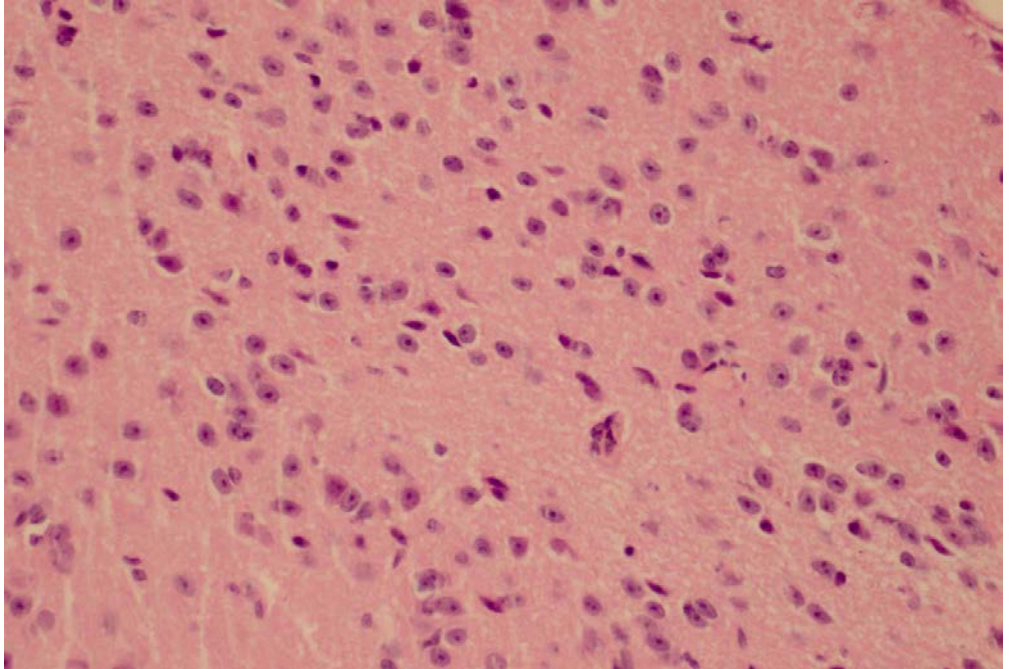
Resim 3.2. CPF grubu farelerin beyin substantia nigra bölgesinde nöron dejenerasyonu ve Lewy body cisimcikleri (beyaz okların ucu). Yine nöron sayısında gözle görülebilir bir azalma dikkat çekmektedir (X 20, H&E).



Resim 3.3. CAPE grubu farelerin beyin substantia nigra bölgesinde nöronların normal görünümü (X 20, H&E).



Resim 3.4. CPF+CAPE grubu farelerin beyin substantia nigra bölgesinde dejeneratif nöronların sayısında ve şiddetinde azalma (X 20, H&E).



Resim 3.5. Etanol grubu farelerin beyin substantia nigra bölgesinde nöronların normal görünümü (X 20, H&E).

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünyada nörodejeneratif hastalıklar arasında yaygın olarak görülen Parkinson Hastalığı'nın, yaşlı popülasyonuna bağlı olarak prevalansı da artmaktadır. Genellikle ileri yaşlarda görülen PH'da, beynin nigrostriatal kısmındaki dopaminerjik nöronlarda hasar ve buna bağlı olarak striatumunda dopamin seviyesinde azalma olduğu bildirilmektedir (41). Bazı çalışmalarda, PH'da dopaminerjik nöron kaybının oksidatif strese bağlı oluşabileceği ileri sürülmektedir (53, 148). Çevresel toksinler ile pestisitlere dolaylı yollardan maruz kalan canlılarda; sinir sisteminde kronik hasarlar ve oksidan/antioksidan dengenin oksidanlar yönüne kayması durumunda artan oksidatif strese bağlı olarak PH'nın oluşma riskinin arttığı kaydedilmektedir (46, 99). Tarımsal alanda yaygın olarak kullanılan ve CPF ailesi organofosfatlı bileşiklere maruz kalan canlılarda PH'ya yakalanma riski arasında yüksek bir ilişkinin olduğunu bildiren birçok epidemiyolojik çalışma mevcuttur (47, 122).

Yapılan bu çalışmada, Klorprifos-etil ile deneysel Parkinson oluşturulan farelerde plazma ve beyin dokusu PON1 aktivitesi, lipid profili, TSA, TAK ve TOK seviyeleri üzerine CAPE'nin koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı.

Son yıllarda deneysel PH modeli oluşturulmasında, 6-OHDA ve MPTP nörotoksinleri ile paraquat, rotenon ve maneb gibi tarım kimyasalları kullanılmaktadır (11). Bunların mitokondri kompleks-I enzim sistemini inhibe ederek, dopaminerjik nöron hasarına bağlı PH'ya özgü bulguların (anatomik, davranışsal ve nöropatolojik bulgular) ortaya çıkmasına neden olduğu bildirilmektedir (19). Organofosfatlı insektisitler, kolinesteraz inhibisyonu ile organizmanın motor fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemekte ve PH semptomlarının şiddetini arttırmaktadır (27, 94).

Yapılan çalışmada, deney süresince deney hayvanlarının genel hareketlerinin değerlendirildiği Ludolp Hareket Analiz skalasına göre CPF uygulanan gruptaki farelerin kontrol grubundakilere göre; hareketlerinde yavaşlama, belirgin yürüme anormallikleri ve davranış bozuklukları tespit edildi.

Ludolp hareket analizi bulguları daha önceki çalışmalarla (114, 147) uyumluluk göstermektedir. CPF+CAPE uygulanan gruptaki farelerin ise CPF grubundaki farelere göre hareketlerindeki yavaşlama ve davranış bozukluklarının daha az olduğu gözlemlendi. CPF+ CAPE grubunda, CPF'nin oluşturduğu nöronal hasarı CAPE'nin nöroprotektif etkisine bağlı olarak önleyebileceği düşüncesini (68) paylaşmaktayız.

Motor aktiviteyi belirlemek için bradikinezi şiddeti değerlendirildiğinde, CPF uygulanan grupta, kontrol grubuna göre bradikinezi şiddetinin önemli oranda arttığı (P <0.001) gözlemlendi. Meydana gelen bu artışın, CPF'nin dopaminerjik nöronlarda oluşturduğu harabiyete bağlı olarak harekete geçme eğilimini yavaşlatabileceği kanaatine varıldı. CPF+CAPE grubunda bradikinezi şiddetinin kontrol grubuna göre arttığı, CPF grubuna göre ise azaldığı tespit edildi. Çalışmada elde edilen motor aktivite sonuçları diğer çalışmalarla (105, 147) uyumludur.

Pestisitler, yağlı dokularda birikerek çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olmaktadır. Bu durum, özellikle lipid içeriği ve oksijen gereksinimi yüksek, nöronal hücreleri yenilenemeyen beyin dokusunda olumsuz sonuçlara yol açmaktadır (97). Bunun yanı sıra organofosfatlı bileşikler, merkezi sinir sisteminde öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını da içeren birçok nöropatolojik oluşumlara neden olmaktadır. Bu kimyasalların hedefi, korteks ve hipokampüsteki sinirsel uyarılabilirliğin ana düzenleyicisi olan GABAerjik ve kolinerjik sistemlerdir (30, 97). Yüksek miktarda doymamış yağ asitlerine sahip olan ve oksijeni yüksek düzeyde kullanan beyin dokusu serbest radikal hasarına karşı oldukça duyarlıdır. PH ve AH gibi nörodejeneratif hastalıkların fizyopatolojisi ve prognozunda serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresin rol oynadığı bildirilmektedir (66, 92).

Literatürde, organofosfatlı bileşiklerin yoğun serbest radikal üretimine neden olduğu, başta membran lipidleri olmak üzere metabolizmadaki önemli biyomoleküllerin oksidatif hasarına yol açtığı ileri sürülmektedir (74). Gültekin ve ark. (80)'ları organofosfatlı bir insektisit olan CPF'yi oral yoldan ratlara uyguladıkları bir çalışmada, lipid peroksidasyonunun arttığını ve antioksidan savunma potansiyelinin azaldığını rapor etmişlerdir.

Plazmada antioksidanlar etkileşim içerisinde bulunmaktadır. Bu durum, antioksidanların bir arada oluşturduğu etkinin, her birinin tek başına oluşturduğu etkiden daha fazla sinerji ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Aynı durumun oksidan moleküller için de geçerli olduğu bildirilmektedir (173). Bu nedenle organizmadaki antioksidan/oksidan dengenin belirlenmesi için tek tek antioksidan ve oksidanların ölçümünden ziyade, TAK ve TOK ölçümünün daha yararlı olduğu bildirilmektedir (60, 61).

El-Banna ve ark. (57)'leri yaptıkları bir çalışmada, düşük ve yüksek dozda CPF uyguladıkları ratlarda TBARS seviyesinin yüksek, TAK seviyesinin ise düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Yine Kılınç ve ark. (103)'leri, CPF'nin rat plazmasında lipid peroksidatif etkiye sebep olduğunu, melatonin ve vitamin E+C kombinasyonunun CPF'nin toksik etkilerini anlamlı derecede ($P<0.001$) azalttığını bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmada, plazma ve beyin TAK seviyeleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CPF grubunda TAK seviyesinin anlamlı derecede düşük ($P<0.001$) olduğu belirlendi. CPF+CAPE grubunda ise TAK seviyesinin CPF grubuna göre yüksek ($P<0.001$), kontrol grubuna göre düşük ($P<0.001$) olduğu tespit edildi. Beyin ve plazma TAK seviyeleri karşılaştırıldığında, beyin TAK seviyesinin plazma TAK seviyesinden daha düşük olduğu gözlemlendi. Elde edilen bu sonuçların, CPF'nin beyin dokusunda meydana getirdiği oksidatif strese bağlı nörodejenerasyondan kaynaklanabileceği kanaatine varıldı. Yine deney grupları ile plazma ve beyin TOK seviyeleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CPF grubunda TOK seviyesinin önemli derecede yüksek ($P<0.001$), CPF+CAPE grubunda ise TOK seviyesinin CPF grubuna göre düşük, kontrol grubuna göre ise yüksek olduğu tespit edildi. Deneysel PH modelinde 6-OHDA'nın neden olduğu nöronal dokudaki mitokondriyal hasarın CAPE'nin antioksidan ve nöroprotektif etkisiyle önlenemediğinin ileri sürüldüğü çalışmalarla bulgularımız uyum göstermektedir (68, 125).

Canlılarda organofosfatlı pestisitlerin detoksifikasyonu; PON1, asetilkolinesteraz ve karboksilesteraz gibi enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir (63, 133). PON1'in AH ve PH gibi nörodejeneratif hastalıkların teşhisinde kilit bir enzim olduğu ileri sürülmektedir (165). Sporadik idiopatik olgularda, PON1 ile metabolize olan çevresel nörotoksinlerin yaşla birlikte nörodejenerasyondan sorumlu tutulabileceği ve PON1 B allelin PH'ya genetik yakınlık oluşturabileceği rapor edilmektedir (28).

Yapılan çalışmada, plazma ve beyin PON1 aktivitesinin CPF grubunda kontrol grubuna göre oldukça düşük ($P<0.001$) olduğu tespit edildi. Bunun organofosfatlı bir bileşik olan CPF'nin karaciğerde meydana getirdiği hasar sonucu PON1 sentezinin azalmasına bağlı olabileceği düşüncesini (102) paylaşmaktayız. CPF+CAPE grubunda ise PON1 aktivitesinin CPF grubuna göre yüksek, kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edilirken, en yüksek PON1 aktivitesi ise CAPE uygulanan grupta tespit edildi. Elde edilen bu sonuçlardan yola çıkarak daha önceki çalışmalarda antioksidan ve nöroprotektif etkisi olduğu belirtilen CAPE'nin organizmanın çeşitli dokularında organofosfatlı pestisitlerce indüklenen oksidatif stresi engelleyerek antioksidan bir enzim olan PON1 aktivitesini arttırabileceği düşünülmektedir (68, 125).

PON1 antioksidan özellikte, HDL'nin apo A1 ve apo J (clustrein) proteinleri ile ilişkili bir enzim (83) olup, peroksidasyona uğramış lipidleri metabolize edebilmekte ve lipid peroksidlerinin hem HDL'de hem de LDL'de birikimini önlediği bildirilmektedir (119). Yapılan çalışmalarda, HDL'nin LDL'yi lipid peroksidasyonuna karşı koruduğu ve bu özelliğinin A ve E vitaminlerinden daha etkili olduğu ileri sürülmektedir (119, 146). Birçok çalışmada organofosfatlı pestisitlerin total kolesterol ve LDL seviyelerini arttırdığı, HDL seviyelerini ise azalttığı kaydedilmektedir (9, 57). Ambali ve ark. (9)'ları, erkek ratlara gavaj yoluyla CPF ve vitamin C uyguladıkları çalışmalarında; CPF uyguladıkları ratlarda total kolesterol, LDL, VLDL seviyelerinin yüksek, trigliserit ve HDL seviyelerinin düşük olduğunu, vitamin C uygulanan ratlarda ise total kolesterol, LDL, VLDL seviyelerinin düşük, trigliserit ve HDL seviyelerinin yüksek olduğunu saptamışlardır.

Benzer şekilde El-Banna ve ark. (57)'ları düşük ve yüksek doz CPF maruziyetine sarımsağın etkisini araştırdıkları çalışmalarında, kontrol grubuna göre CPF uygulanan ratlarda kolesterol, trigliserit ve LDL seviyelerini yüksek, HDL seviyelerini ise düşük bulmuşlardır. Sarımsak uygulanan grupta ise kolesterol, trigliserit ve LDL seviyelerini düşük, HDL seviyelerini ise yüksek tespit etmişlerdir.

Yine 70 günlük düşük doz CPF uygulanan erkek ratlarda propolis maddesinin lipid profillerine etkisinin incelendiği bir çalışmada CPF uygulanan erkek ratlar kontrol ile kıyaslandığında trigliserit, total kolesterol, LDL ve VLDL seviyelerinin yüksek, HDL seviyelerinin ise düşük olduğu bildirilmektedir (58).

Yapılan çalışmada, CPF uygulanan grupta plazma total kolesterol, trigliserit, LDL ve VLDL seviyeleri diğer gruplarla karşılaştırıldığında yüksek tespit edilirken, plazma HDL seviyeleri ise düşük tespit edildi. CPF grubunda HDL'nin düşük LDL'nin yüksek bulunmuş olması, CPF'nin farelerde meydana getirdiği oksidatif stres sonucu oluşan lipid peroksidasyonuna bağlı LDL oksidasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yine CPF grubu total kolesterol seviyelerinin yüksekliği ise CPF'nin karaciğer hücre permabilitesinde hasara neden olması ve safra kanalının tıkanmasına bağlı olabileceği kanaatine varıldı.

Tavşan ve insanlarda yapılan çalışmalar, akut faz reaksiyonunda HDL yapısında amiloid A ve seruloplazmin içeriğinde artışın ve apo A1, PON1, trombosit aktive edici faktör asetil hidrolaz'da (PAFAH) belirgin azalmanın görülmesi HDL'nin antiinflamatuvar dan proinflamatuvar bir moleküle dönüştüğünü göstermektedir (168). Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve oksidatif stres yanında inflamatuvar mekanizmaların da PH'daki hücresel hasarda rolü olduğu kaydedilmektedir (62, 71). Akut inflamatuvar reaksiyonlarda artan akut faz proteinleri olarak bilinen alfa1-antitripsin, haptoglobulin, seruloplazmin, fibrinojen ve transferrine bağlı olarak bulunan SA miktarının da arttığı bildirilmektedir (81). SA'nın büyük bir kısmı, akut inflamatuvar reaksiyonlarda artan proteinlere bağlı olarak bulunmakta ve akut faz reaktanı olarak görev almaktadır (111).

Sialik asitin sialidazlar tarafından parçalanıp açığa çıkması ve hücre membranında hasar oluşması nedeniyle İdiyopatik Parkinson'da SA seviyesinin yükselmesine neden olabileceği bildirilmektedir (40). Bununla birlikte sialidaz aktivitesinde herhangi bir artış olmaksızın, tek başına oksidatif stresin de hücre yüzeyindeki oligosakkaritlerden SA'nın salıverilmesini başlatabileceği kaydedilmektedir (55). Akhtar ve ark. (3)'ları 90 gün süreyle CPF uyguladıkları ratlarda kontrol grubuna göre CPF verilen grupta artan dozlara bağlı olarak testis dokusunda SA seviyelerinin arttığını tespit etmişlerdir.

Çalışmada, CPF grubu farelerin plazma TSA seviyesi diğer gruplarla karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek ($P<0.001$) olduğu tespit edildi. Yine CPF grubu farelerin beyin TSA seviyesinin anlamlı derecede arttığı ($P<0.001$) saptandı. En düşük beyin TSA seviyesi CAPE uygulanan grupta gözlemlendi. CAPE uygulanan grupta TSA seviyesinin düşük bulunması CAPE'nin beyin dokusunda, CPF'nin meydana getirebileceği nöron hasarına karşı koruyucu olabileceği düşünülmektedir.

CPF ile deneysel PH modelinin başarılı olup olmadığını ve biyokimyasal parametre sonuçlarını histopatolojik olarak desteklemek amacıyla beyin substantia nigra doku kesitleri incelendiğinde CPF uygulanan grupta nöronlarda dejenerasyon ve bazılarında nörofaji görüldü. Yine bu grupta az sayıda dejeneratif nöronda intrasitoplazmik yerleşimli, tekli ya da çoklu granüler yapılar halinde, kahverengi görünümde PH'nin histopatolojik belirteçlerinden biri olan Lewy Body cisimciklerinin varlığı tespit edildi. Çalışmanın histopatolojik sonuçları, CPF'nin deneysel PH oluşturmada etkili olduğu ve CPF uygulanan grubun beyin substantia nigra bölgesinde histopatolojik incelemede Lewy Body cisimciğine rastlanması bir ilk olup çalışmanın orijinalitesi açısından önemlidir.

Sonuç olarak, tarım alanında yaygın bir şekilde kullanılan CPF'nin deneysel PH modeli olarak kullanılabilmesi, CAPE'nin deneysel PH'da plazma ve beyin dokusu PON1 aktivitesi, TAK ve HDL seviyelerini arttırdığı, TSA, TOK, total kolesterol, trigliserit, LDL, VLDL seviyelerini ise azalttığı ve beyin dokusunda oluşan nörodejenerasyonlara karşı koruyucu etkisinin olabileceği kanaatine varıldı.

5. ÖZET

Bu çalışmada, Klorprifos-etil ile deneysel Parkinson oluşturulan farelerde plazma ve beyin dokusu PON1 aktivitesi, lipid profili, TSA, TAK ve TOK seviyeleri üzerine CAPE'nin koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmada 35 adet erkek Swiss albino fare 5 eşit gruba ayrıldı. Kontrol (K) grubu farelere intraperitoneal serum fizyolojik, klorprifos-etil (CPF) grubuna deri altı 80 mg/kg klorprifos-etil, kafeik asit fenetil ester (CAPE) grubuna intraperitoneal 10 µmol/kg CAPE, CPF+CAPE grubuna deri altı 80 mg/kg klorprifos-etil ve intraperitoneal 10 µmol/kg CAPE, etanol (E) grubuna intraperitoneal olarak %10'luk etanol serum fizyolojikte seyreltilerek 21 gün süre ile uygulandı. Tüm denekler normal fare yemi ve musluk suyu ile *ad libitum* olarak beslendi. Çalışma sonunda plazma ve beyin dokusunda PON1 aktivitesi, lipid profili (beyin hariç), TAK, TOK ve TSA seviyeleri analiz edildi. Elde edilen beyin substantia nigra doku örnekleri histopatolojik olarak değerlendirildi.

CPF grubu plazma PON1 aktivitesi, TAK ve HDL seviyelerinin diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük ($P<0.001$) olduğu gözlemlendi. Yine CPF grubu plazma TOK, TSA, total kolesterol, trigliserit, LDL ve VLDL seviyelerinin ise önemli derecede yüksek ($P<0.001$) olduğu saptandı. Beyin dokusuna ait CPF grubu PON1 aktivitesi ve TAK seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük ($P<0.001$) bulundu. Beyin dokusu TOK ve TSA seviyelerinin ise anlamlı derecede yüksek ($P<0.001$) olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak, tarım alanında yaygın bir şekilde kullanılan CPF'nin deneysel PH modeli olarak kullanılabileceği, CAPE'nin deneysel PH'da plazma ve beyin dokusu PON1 aktivitesi, TAK ve HDL seviyelerini arttırdığı, TSA, TOK, total kolesterol, trigliserit, LDL, VLDL seviyelerini ise azalttığı ve beyin dokusunda oluşan nörodejenerasyonlara karşı koruyucu etkisinin olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Parkinson Hastalığı, Kafeik asit fenetil ester, Paraoksonaz, Lipid profili, Total oksidan kapasite, Total antioksidan kapasite, Total sialik asit.

6. ABSTRACT

In this study, we aimed to investigate the protective effect of CAPE on PON1 activity, lipid profile, levels of TSA, TAC and TOC in plasma and brain tissue mice with experimental Parkinson used chlorpyrifos-ethyl.

In the study 35 male Swiss albino mice divided into 5 equal groups as following, intraperitoneal injection of saline for control (C) group mice, subcutaneous 80 mg/kg chlorpyrifosethyl for chlorpyrifos-ethyl (CPF) group, intraperitoneal injection of 10 μ mol/kg CAPE for caffeic acid phenethyl ester (CAPE) group, subcutaneous 80 mg/kg chlorpyrifos-ethyl and intraperitoneal 10 μ mol/kg CAPE for CPF+CAPE group, 10% ethanol diluted in physiological saline solution for ethanol (E) group was applied intraperitoneally for 21 days. All the mice were fed with the normal chow and tap water *ad libitum*. At the end of the study, PON1 activity, lipid profile (except for brain), levels of TSA, TAC and TOC in the plasma and brain tissue were analyzed. Tissue samples of brain substantia nigra were evaluated histopathologically.

Levels of plasma TAC, HDL and PON1 activity in CPF group were statistically lower ($P < 0.001$) than in other groups. Also, levels of plasma TOC, TSA, total cholesterol, triglycerides, LDL and VLDL in CPF group were statistically higher ($P < 0.001$) than in other groups. Levels of PON1 activity and TAC in brain tissue of CPF groups were significantly lower ($P < 0.001$). In addition, levels of TOC and TSA of brain tissue in CPF group were significantly higher ($P < 0.001$).

In conclusion, CPF widely used in the field agriculture can be used as an experimental model of PH, CAPE in experimental PH increased PON1 activity, TAC and HDL levels, decreased TSA, TOC, total cholesterol, triglyceride, LDL and VLDL levels and was observed that can be protective effect against neurodegenerations in brain tissue.

Key Words: Parkinson's Disease, Caffeic acid phenethyl ester, Paraoxonase, Lipid profile, Total oxidant capacity, Total antioxidant capacity, Total sialic acid.

7. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Gaziantep ili İslahiye ilçesinde doğdu. İlkokulu İslahiye ilçesi Türkbahçe Köyü İlkokulu'nda, orta okulu Fevzipaşa Lisesi ve lise öğrenimini İbni Sina Lisesi'nde tamamladı. 2000 yılında Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandı ve 2004 yılında ikincilikle biyolog olarak mezun oldu. Aynı yıl Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Genel Biyoloji Anabilim Dalı'nda başladığı yüksek lisans eğitimini 2007 yılında tamamladı. 2007 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. Halen Kafkas Üniversitesi Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu'nda Öğretim Görevlisi olarak çalışmaktadır.

8. KAYNAKLAR

1. Aarsland, D., Tandberg, E., Larsen, J.P., Cummings, J.L.: Frequency of dementia in Parkinson Disease. *Arch. Neurol.*, 53: 538-542, 1996.
2. Abdollahi, M., Mostafalou, S., Pournourmohammadi, S., Shadnia, S.: Oxidative stress and cholinesterase inhibition in saliva and plasma of rats following subchronic exposure to malathion. *Comp. Biochem. Physiol. Part C.*, 137: 29-34, 2004.
3. Akhtar, N., Srivastava, M.K., Raizada, R.B.: Assessment of chlorpyrifos toxicity on certain organs in rat, *Rattus norvegicus*. *J. Environ. Biol.*, 30(6): 1047-1053, 2009.
4. Akkuş, İ.: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1.Baskı, Mimoza Yay., Konya, 1995.
5. Akyol, S., Armutçu, F., Yiğitoğlu, M.R.: Propolisin aktif bileşenlerinden kafeik asit fenetil ester'in (CAPE) bazı nörolojik hastalık ve acillerde kullanılması. *Spatula D.D.*, 1(1): 37-42, 2011.
6. Aldridge, W.N.: An enzyme hydrolyzing diethyl p-nitro phenyl phosphate (E-600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. *Biochem. J.*, 53: 117-124, 1953.
7. Aliyazıcıoğlu, Y., Değer, O., Ovalı, E., Barlak, Y., Hoşver, I., Tekelioğlu, Y., Karahan, S.C.: Effects of Turkish pollen and propolis extracts on respiratory burst for K- 562 cell lines. *Int. Immunopharmacol.*, 5(11): 1652-1657, 2005.
8. Ambali, S.F., Ayo, J.O.: Sensorimotor performance deficits induced by chronic chlorpyrifos exposure in wistar rats: Mitigative effect of vitamin C. *Toxicol. Environ. Chem.*, 93(6): 1212-1226, 2011.

9. Ambali, S.F., Shittu, M., Ayo, J.O., Esievo, K.A.N., Ojo, S.A.: Vitamin C alleviates chronic chlorpyrifos induced alterations in serum lipids and oxidative parameters in male wistar rats. *Am. J. Pharmacol. and Toxicol.*, 6(4): 109-118, 2011.
10. Ambali, S.F., Aliyu, M.B.: Short-term sensorimotor and cognitive changes induce by acute chlorpyrifos exposure: Ameliorative effect of vitamin E. *Pharmacologia*, 3(2): 31-38. 2012.
11. Andreas, S.: Classic toxin-induced animal models of Parkinson's Disease: 6-OHDA and MPTP. *Cell Tissue Res.*, 318: 215-224, 2004.
12. Aral, H., İnal, B.B., Usta, M., Bilgi, P.T., Emecen, Ö., Şahin, M., Güvenen, G.: Friedewald hesaplaması ile direkt LDL-kolesterol ölçümünün karşılaştırılması. *Tr. Klin. Biyokimya Derg.*, 6: 43-49, 2008.
13. Aviram, M.: Does Paraoxonase play role in susceptibility to cardiovascular disease?. *Mol. Med. Today*, 5: 381-386, 1999.
14. Bakar, E.: Besin koruyucuların sıçan dokularında sialik asit düzeyleri ve membran glikozaminoglikanları üzerine etkileri. Doktora tezi, Trakya Üniv. Fen Bil. Enst., Edirne, 2008.
15. Barone, S., Das, K.P., Lassiter, T.L., White, L.D.: Vulnerable processes of nervous system development: A review of markers and methods. *Neurotoxicology*, 21: 15-36, 2000.
16. Başkol, G., Köse, K.: Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. *Erciyes Tıp Derg.*, 26(2): 75-80, 2004.
17. Bayrak, T., Bayrak, A., Demirpençe, E., Kılınç, K.: Yeni bir kardiyovasküler belirteç adayı: Paraoksonaz. *Hacettepe Tıp Derg.*, 36: 147-151, 2005.

18. Benmoyal-Segal, L., Vander, T., Shifman, S., Bryk, B., Ebstein, R., Marcus, E.L., Stessman, J., Darvasi, A., Herishanu, Y., Friedman, A., Soreq, H.: Acetylcholinesterase/paraoxonase interactions increase the risk of insecticide-induced Parkinson's disease. *FASEB J.*, 19: 452-454, 2005.
19. Betarbet, R., Sherer, T.B., Mackenzie, G., Garcia-Osuna, M., Panov, A., Greenamyre, J.T.: Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's Disease. *Nature Neurosci.*, (3): 1302-1308, 2000.
20. Blanco-Coronado, J.L., Repetto, M., Ginestal, R.J., Vicente, J.R., Yelamos, F., Lardelli, A.: Acute intoxication by endosulfan. *J. Toxicol.*, 30(4): 575-583, 1992.
21. Blatter Garrin, M.C., Moren, X., James, R.W.: Paraoxonase-1 and serum concentrations of HDL-cholesterol and apoA-I. *J. Lipid Res.*, 47(3): 515-520, 2006.
22. Blix, G.: The carbohydrate groups of the submaxillary mucin. *Z. Physiol. Chem.*, 240: 43-54, 1936.
23. Blum, D., Torch, S., Lamben, N., Nissou, M.F., Benabid, A.L., Sadoul, R., Verna, J.M.: Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: Contribution to the apoptotic theory in Parkinson's Disease. *Progress in Neurobiology*, 65: 135-172, 2001.
24. Brealey, C.B., Walker, C.H., Baldwin, B.C.: A-esterase activities in relation to the differential toxicity of pirimiphosmethyl to birds and mammals. *Pestic. Sci.*, 11: 546-554, 1980.
25. Brophy, V.H., Jampsa, R.L., Clendenning, J.B., McKinstry, L.A., Jarvik, G.P., Furlong, C.E.: Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase gene (PONI) expression. *Am. J. Hum. Genet.*, 68: 1428-1436, 2001.

26. Butterfield, D.A., Lauderback, C.M.: Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's Disease brain: Potential causes and consequences involving Amyloid beta peptide-associated free radical oxidative stress. *Free Rad. Biol. Med.*, 32: 1050-1060, 2002.
27. Carriero, D.L., Outslay, G., Mayorga, A.J., Aberman, J., Gianutsos, G., Salamone, J.D.: Motor dysfunction produced by tacrine administration in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 58(4): 851-858, 1997.
28. Clarimon, J., Eerola, J., Hellstrom, O., Tienari, P.J., Singleton, A.: Paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and Parkinson's Disease in a Finnish population. *Neurosci. Lett.*, 367: 168-170, 2004.
29. Castaldo, S., Capasso, F.: Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 73: 1-6, 2002.
30. Castillo, C.G., Montante, M., Dufour, L., Martinez, M.L., Jimenez-Capdeville, M.E.: Behavioral effects of exposure to endosulfan and methyl parathion in adult rats. *Neurotoxicol. Teratol.*, 24: 797-804, 2002.
31. Ceron, J.J., Panizo, C.G., Montes, A.: Toxicological effects in rabbits induced by endosulfan, lindane and methylparathion representing agricultural by products contamination. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 54: 258-265, 1995.
32. Ceylan, E., Gülsün, A., Gencer, M., Aksoy, N.: A new parameter in the detection of tuberculosis activity: Reactive oxygen metabolites. *Respiration*, 72(2): 156-159, 2005.
33. Champe, P.C., Harvey, R.A.: Glikozaminoglikanlar. A., Tokullugil, M., Dirican, E., Ulukaya., Lippincott's *İllustrated serisi Biyokimya*, 2.Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1997.

34. Cheeseman, K.H., Slater, T.F.: An introduction to free radical biochemistry. *British Med. Bull.*, 49(3): 481-493, 1993.
35. Chen, X., Varki, A.: Advances in the biology and chemistry of sialic acids. *ACS Chem. Biol.*, 5: 163-176, 2010.
36. Cohen, G.: Oxidative stress, mitochondrial respiration and Parkinson's Disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 899: 112-120, 2000.
37. Costa, L.G., McDonald, B.E., Murphy, S.D., Omenn, G.S., Richter, R.J., Motulsky, A.G., Furlong, C.E.: Serum Paraoxonase and its influence on paraoxon and chlorpyrifos-oxon toxicity in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 103: 66-76, 1990.
38. Costa, L.G., Cole, T.B., Jarvik, G.P., Furlong, C.E.: Functional genomics of the Paraoxonase (PON1) polymorphisms: effects on pesticide sensitivity, cardiovascular disease drug metabolism. *Ann. Rev. Med.*, 54: 371-392, 2000.
39. Costa, L.G., Cole, T.B., Furlong, C.E.: Polymorphisms of paraoxonase (PON1) and their significance in clinical toxicology of organophosphates, *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 41(1): 37-45, 2003.
40. Çetinkaya, Y., Gencer, M., Özkök, E., Aydın, M., Yüksel, G.A., Tireli, H., Kara, İ.: İdiyopatik Parkinson Hastalığı ve sialik asit. *Düşünen Adam Derg.*, 17(4): 205-208, 2004.
41. Dauer, W., Przedborski, S.: Parkinson's Disease: Mechanisms and models. *Neuron*, 39: 889-909, 2003.
42. Deakin, S., Leviev, I., Gomaschi, M., Calabresi, L., Franceschini, G.A., James, R.W.: Enzymatically active Paraoxonase-1 is located at the external membrane of producing cells and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism. *J. Biol. Chem.*, 277: 4301-4308, 2002.

43. Deakin, S., James, R.W.: Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme Paraoxonase-1. *Clin. Sci.*, 107(5): 435-447, 2004.
44. Değer, O., Örem, A.: Lipidlerin taşınması ve depolanması. Onat, T., Emerk, K., Sözmén, E.Y., İnsan Biyokimyası, Palme Yay., Ankara, 2002.
45. Demirdöğén, B.C.: Organofosfatlı pestisit zehirlenmeleri ve serum Paraoksonaz 1 (PON1) enziminin organofosfat metabolizmasındaki rolü. *Tr. Hij. Deney Biyol. Derg.*, 67(2): 97-112, 2010.
46. Dhillon, A.S.: Pesticide/environmental exposures and Parkinson's Disease in East Texas, *J. Agromedicene*, 13(1): 37-48, 2008.
47. Di Monte, D.A., Lavasani, M., Manning-Bog, A.B.: Environmental factors in Parkinson's Disease. *Neurotoxicol.*, 23: 487-502, 2002.
48. Draganov, D.I., La Du, B.N.: Pharmacogenetics of paraoxonases: A brief review. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 369: 78-88, 2004.
49. Dunnett, S.B., Bjorklund, A.: Prospects for new restorative and neuroprotective treatments in Parkinson's Disease. *Nature*, 399: 32-39, 1999.
50. Dünder, Y., Aslan, R.: Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. Afyon Kocatepe Üniv.Yay., Afyon, 2000.
51. Dwivedi, P.D., Mukul, D., Khanna, S.K.: Role of Cytochrome P-450 in quinalphos toxicity: effect on hepatic and brain antioxidant enzymes in rats. *Food Chem. Toxicol.*, 36: 437-444, 1998.

52. Eaton, D.L., Daroff, R.B., Autrup, H., Bridges, J., Buffler, P., Costa, L.G., Coyle, J., McKhann, G., Mobley, W.C., Nadel, L., Neubert, D., Schulte-Hermann, R., Spencer, P.S.: Review of the toxicology of chlorpyrifos with an emphasis on human exposure and neurodevelopment. *Critical Reviews in Toxicology*, 38(2): 1-125, 2008.
53. Ebadi, M., Govitrapong, P., Sharma, S., Muralikrishnan, D., Shavali, S., Pellett, L., Schafer, R., Albano, C., Eken, J.: Ubiquinone (Coenzyme Q10) and mitochondria in oxidative stress of Parkinson's Disease. *Biol. Signals Recept.*, 10 (3-4): 224-253, 2001.
54. Eckerson, H.W., Romson, J., Wyte, C.M., La Du, B.N.: The human serum paraoxonase polymorphism: Identification of phenotypes by their response to salts. *Am. J. Hum. Genet.*, 35(2): 214-227, 1983.
55. Eguchi, H., Ikeda, Y., Ookawara, T., Koyota, S., Fujiwara, N., Honke, K., Wang, P.G., Taniguchi, N., Suzuki, K.: Modification of oligosaccharides by reactive oxygen species decreases sialyl lewis x-mediated cell adhesion. *Glycobiology*, 15(11): 1094-1101, 2005.
56. Ekebaş, S., Çakır, S., Ertuğrul, O., Kence, A.: The detection of mutagenic activity of some chemicals (azamethypos, dichlorvos, methyl parathion, aflatoxin b1) by the smart test in drosophila melanogaster. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 24(6): 563-569, 2000.
57. El-Banna, S.G., Attia, A.M., Hafez, A.M., El-Kazaz, S.M.: Effect of garlic consumption on blood lipid and oxidant/antioxidant parameters in rat males exposed to chlorpyrifos. *Slovak J. Anim. Sci.*, 42(3): 111-117, 2009.
58. El Mazoudy, R.H., Attia A.A., El-Shenawy, N.S.: Protective role of propolis against reproductive toxicity of chlorpyrifos in male rats. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 101(3): 175-181, 2011.

59. Elsworth, J.D., Roth, R.H.: Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's Disease. *Exp. Neurol.*, 144(1): 4-9, 1997.
60. Erel, Ö.: A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable abts radical cation. *Clin. Biochem.*, 37: 277-285, 2004.
61. Erel, Ö.: A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin. Biochem.*, 38:1103-1111, 2005.
62. Eriksen, J.L., Petrucelli, L.: Parkinson's Disease molecular mechanisms of disease. *Drug Discov Today*, 1(4): 399-405, 2004.
63. Eyer, P., Szinicz, L., Thiermann, H., Worek, F., Zilker, T.: Testing of antidotes for organophosphorus compounds: Experimental procedures and clinical reality. *Toxicology*, 233(1-3): 108-119, 2007.
64. Fadilloğlu, E., Erdoğan, H., Iraz, M., Yağmurca, M.: Effects of caffeic acid phenethyl ester against doxorubicin-induced neuronal oxidant injury. *Neurosci. Res. Commun.*, 33: 132-138, 2003.
65. Fearnley, J.M. And Lees, A.J.: Ageing and Parkinson's Disease: Substantia nigra regional selectivity. *Brain*, 114: 2283-2301, 1991.
66. Floyd, R.A., Carney, J.M.: Free radical damage to protein and DNA: Mechanisms involved and relevant observations on brain undergoing oxidative stress. *Ann. Neurol.*, 32: 22-27, 1992.
67. Foley, P., Riederer, P.: Influence of neurotoxins and oxidative stress on the onset and progression of Parkinson's Disease. *J. Neurol.*, 247(2): 1182-1194, 2000.

68. Fontanilla, C.V., Ma, Z., Wei, X., Klotsche, J., Zhao, L., Wisniowski, P., Dodel, R.C., Farlow, M.R., Oertel, W.H., Du, Y.: Caffeic acid phenethyl ester prevents 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine induced neurodegeneration. *Neuroscience*, 11(188): 135-141, 2011.
69. Fukuto, T.R.: Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environ. Health Perspect.*, 87: 245-254, 1990.
70. Furlong, C.E.: PON1 status and neurologic symptom complexes in gulf war veterans. *Genome Res.*, 10: 153-155, 2000.
71. Fuxea, K.G., Tarakanovb, A.O., Goncharovac, L.B., Agnatid, L.F.: A new road to neuroinflammation in Parkinson's Disease?. *Brain Research*, 58; 453-458, 2008.
72. Gardiner, T.: Dietary N-acetylneuraminic acid (NANA): Absorption, distribution, metabolism, excretion (ADME) and biological activity. *Glycoscience and Nutrition*, 1(10): 1-3, 2000.
73. Geldmacher-Von Mallinckrodt, M., Petenyi, M., Flugel, M., Burgis, H., Dietzel, B., Metzner, H., Nirschl, H., Renner, O.: Genetically determined polymorphism of human serum Paraoxonase (EC 3.1.1.2). *Human Genetic*, 17: 331-335, 1973.
74. Gökalp, O., Mollaoğlu, H., Yılmaz, H.R., Altuntaş, D.: Organofosfat insektisit fenthion'un rat amilaz ve lipaz enzimleri üzerine etkisi: Vitamin E ve C'nin rolü. *Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fak. Derg.*, 10(2): 21-23, 2003.
75. Greenamyre, J.T., Sherer, T.B., Betarbet, R., Panov, A.V.: Complex I and Parkinson's Disease. *IUBMB Life*, 52: 135-141, 2001.

76. Grow, R., Gordon, H.: Sialic acid inhibits agrin signaling in C2 myotubes. *Cell Tissue Res.*, 299 (2): 273-279, 1972.
77. Gutteridge, J.M.C.: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.*, 41(12): 1819-1828, 1995.
78. Gülcü, F., Gürsu, M.F.: Paraoksonaz ve aril esteraz aktivite ölçümlerinin standardizasyonu. *Turk J. Biochem.*, 28(2): 45-49, 2003.
79. Gültekin, F., Delibaş, N., Kutluhan, S., Akdoğan, M., Kılınç, İ., Sütçü, R.: Rat beyin dokularında chlorpyrifos-ethyl'in neden olduğu antioksidan sistemdeki değişiklikler ile melatonin ve vitamin C + vitamin E'nin koruyucu etkileri. *Sakarya Üniv. Tıp Fak. Derg.*, 17: 79-86, 2001.
80. Gültekin, F., Delibaş, N., Yaşar, S., Kılınç, İ.: In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Arch.Toxicol.*, 75: 88-96, 2001.
81. Hag, M., Hag, S., Tutt, P., Crook, M.: Serum total sialic acid and lipid associated sialic acid in normal individuals and patients with myocardial infarction and their relationship to acute phase proteins. *Ann. Clin. Biochem.*, 30(4): 383-386, 1993.
82. Harel, M., Aharoni, A., Gaidukov, L., Brumshtein, B., Khersonsky, O., Meged, R., Dvir, H., Ravelli, R.B.G., Mccarthy, A., Toker, L., Silman, I., Sussman, J.L., Dan S, Tawfik.: Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nature Struct. Mol. Biol.*, 11: 412-419, 2004.

83. Hasselwander, O., McMaster, D., Fogarty, A.D., Maxwell, A.P., Nicholls, D.P., Young, J.S.: Serum paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase in chronic renal failure. *Clin. Chem.*, 44: 179-182, 1998.
84. Hazarika, A., Sarkar, S.N., Hajare, S., Kataria, M., Malik, J.K.: Influence of malathion pretreatment on the toxicity of anilofos in male rats: A biochemical interaction study. *Toxicology*, 185: 1-8, 2003.
85. Hegele, R.A., Brunt, J.H., Connelly, P.W.: A polymorphism of the paraoxonase gene associated with variation in plasma lipoproteins in a genetic isolate. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 15: 89-95, 1995.
86. Hickey, P., Stacy, M.: Available and emerging treatments for Parkinson's disease: A review. *Drug Des. Dev. Ther.*, 5:241-254, 2011.
87. Hunter, D.L., Lassiter, T.L., Padilla, S.: Gestational exposure to chlorpyrifos: Comparative distribution of trichloropyridinol in the fetus and dam. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 158(1): 16-23, 1999.
88. İlhan, A., Koltuksuz, U., Özen, S., Ciralik, H., Akyol O.: The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*, 16: 458-463, 1999.
89. İlhan, A., Iraz, M., Gürel, A., Armutçu, F., Akyol, O.: Caffeic acid phenethyl ester exerts a neuroprotective effect on CNS against pentylenetetrazol-induced seizures in mice. *Neurochem. Res.*, 29: 2287-2292, 2004.
90. James, R.W., Deakin, S.P.: The importance of HDLs for Paraoxonase-1 secretion stability and activity. *Free Radical Biol.*, 37: 1986-1994, 2004.
91. Jaouad, L., Guise, C.D., Berrougui, H., Clouiter, M., Isabellea, M., Fulop, T., Payette, H., Khalil, A.: Age-related decrease in HDL's antioxidant activity is due to an alteration in the PON1's free sulfhydryl groups. *Atherosclerosis*, 185: 191-200, 2006.

92. Jha, N., Jurma, O., Lalli, G., Liu, Y.: Glutathione depletion in PC 12 results in selective inhibition of mitochondrial complex-I activity. Implications for Parkinson's Disease. *J. Biol. Chem.*, 275: 26096-26101, 2000.
93. Josse, D., Xie, W., Renault, F., Rochu, D., Schopfer, L.M., Masson, P., Lockridge, O.: Identification of residues essential for human paraoxonase (PON1) arylesterase/organophosphatase activities. *Biochemistry*, 38(9): 2816-2825, 1999.
94. Kahraman, K.: Ratların ince bağırsakları üzerine metil parathionun etkisi ve vitamin C ve E'nin koruyucu rolü. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniv. Fen Bil. Enst., Ankara, 2006.
95. Kaplan, J.G., Kessler, J., Rosenberg, N., Pack, D., Schumburg, H.H.: Sensory neuropathy associated with dursban (chlorpyrifos) exposure. *Neurology*, 43: 2193-2196, 1993.
96. Karalliadde, L., Senanayake, N.: Organophosphorus insecticide poisoning. *J. Int. Fed. Clin. Chem.*, 11: 1-9, 1999.
97. Kaya, E.: Klorprifos ve deltamethrin'in kan ve beyin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniv. Fen Bil. Enst., Isparta, 2005.
98. Karen, D.J., Li, W., Harp, P.R., Gillette, J.S., Bloomquist, J.R.: Striatal dopaminergic pathways as a target for the insecticides chlorpyrifos and permethrin. *Neurotoxicology*, 22(6): 811-817, 2001.
99. Keifer, M.C., Firestone, J.: Neurotoxicity of pesticides. *J. Agromed.*, 12: 17-25, 2007.

100. Khaschsorur, G.A., Winklhofer-Roob, B.M., Rabl, H.: Evaluation of a sensitive HPLC method for the determination of malondialdehyde, and application of the method to different biological materials. *Chromatographia*, 52: 181-184, 2000.
101. Khersonsky, O., Tawfik., D.S.: The histidine 115- histidine 134 dyad mediates the lactonase activity of mammalian serum paraoxonase. *J. Bio. Chem.*, 281: 7649-7656, 2006.
102. Kılıç, S.S., Aydın, S., Kılıç, N., Erman, F., Aydın, S., Çelik I.: Serum arylesterase and paraoxonase activity in patients with chronic hepatitis. *World J. Gastroenterol.*, 11(4): 7351-7354, 2005.
103. Kılınç, I., Altuntaş, I., Kaptanağası, M., Doğuç, D.K., Mollaoğlu, H., Kaleli, S.: Chlorpyrifos-ethyl'in rat plazmasında in vitro liporeksidatif etkisi ile melatoninin ve vitamin C+vitamin E'nin koruyucu etkilerinin araştırılması. *Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fak. Derg.*, 10 (2): 24-28, 2003.
104. Knuiiman, M.W., Watts, G.F., Divitini, M.L.: Sialic acid an independent risk factor for cardiovascular disease. *Annals Epidem.*, 14(9): 627-632, 2004.
105. Kobayashi, T., Araki, T., Itoyama, Y., Takeshita, M., Ohta, T., Oshima, Y.: Effects of -DOPA and bromocriptine on haloperidol-induced motor deficits in mice. *Life Sci.*, 61: 2529-2538, 1997.
106. Koracevic, D., Koracevic, G., Djordjevic, V., Andrejevic, S., Cosic, V.: Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J. Clin. Pathol.*, 54(5): 356-361, 2001.
107. Kökoğlu, E., Sönmez, H., Uslu, E.: Sialic acid levels in various types of cancer. *Cancer Biochem. Biophys.*, 13: 57-64, 1992.

108. Kurutaş, E.B., Kılınç, M.: Effects of pesticides on biological systems. Arch. Med. Rev. J., 12 (3): 215-228, 2003.
109. Li, W.F., Furlong, C., Costa, L.G.: Paraoxonase protects against chlorpyrifos toxicity in mice. Toxicol. Lett., 76: 219-226, 1995.
110. Lichtenthaler, R., Marx, F., Kind, O.M.: Determination of antioxidative capacities using an enhanced total oxidant scavenging capacity (TOSC) assay. Eur. Food Res. Technol., 216: 166-173, 2003.
111. Lindberg, G., Rastam, L., Gullberg, B.: Serum sialic acid concentration and smoking: A population based study. BMJ, 303: 1306-1307, 1991.
112. Lizardi, P.S., O'Rourke, M.K., Morris, R.J.: The effects of organophosphate pesticide exposure on hispanic children's cognitive and behavioral functioning. J. Pediatr. Psychol., 33(1): 91-101, 2008.
113. Lourdes, R., Bharti, M., Durrington, P.N., Hernandez, A., Mackness, M.I.: Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. Biochem. J., 354: 1-7, 2001.
114. Ludolph, A.C., He, F., Spencer, P.S., Hammerstad, J., Sabri, M.: 3-nitropropionic acid exogenous animal neurotoxin and possible human striatal toxin. Can. J. Neurol. Sci., 18(4): 492-498, 1991.
115. MacDonald-Wicks, L.K., Wood, L.G., Garg, M.L.: Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: A review. J. Sci. Food Agric., 86: 2046-2056, 2006.
116. Mackness, B., Durrington, P.N., Mackness, M.I.: Human serum paraoxonase. Gen. Pharmacol., 31: 329-336, 1998.

117. Mackness, M.I., Halam, S.D., Peard, T., Warner, S., Walker, C.H.: The separation of sheep and human serum A-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comp. Biochem. Physiol.*, 82: 675-677, 1985.
118. Mackness, M.I., Walker, C.H.: Multiple forms of sheep serum A-esterase activity associated with the high-density lipoprotein. *Biochem. J.*, 250: 539-545, 1988.
119. Mackness, M.I., Arrol, S., Durrington, P.N.: Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low density lipoprotein. *FEBS Lett.*, 286: 152-154, 1991.
120. Mackness, M.I., Mackness, B., Durrington, P.N., Conelly, P.W., Hegele, R.A.: Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr. Opin. Lipidol.*, 7: 69-76, 1996.
121. Main, A.R.: The role of A-esterase in the acute toxicity of paraoxon, TEPP and parathion. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 34: 197-216, 1956.
122. Manthripragada, A.D., Costello, S., Cockburn, M.G., Bronstein, J.M., Ritz, B.: Paraoxonase 1 (PON1), agricultural organophosphate exposure and Parkinson Disease. *Epidemiology*, 21(1): 87-94, 2010.
123. Mayes, P.A.: Lipid Taşınması ve Depolanması. Harper'ın Biyokimyası, Editörler: Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Rodwell, V.W., Appleton & Lange, Çevirenler: Gülriz Menteş, Biltan Ersöz, 22.baskı, Barış Kitabevi, 292-326, 1993.
124. Nigam, P.K., Narain, V.S., Kumar, A.: Sialic acid in cardiovascular diseases. *Indian J. Clin. Biochem.*, 21(1): 54-61, 2006.

125. Noelker, C., Bacher, M., Gocke, P., Wei, X., Klockgether, T., Du, Y., Dodel, R.: The flavanoid caffeic acid phenethyl ester blocks 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. *Neurosci. Lett.*, 383: 39-43, 2005.
126. Nug, C.J., Shih, D.M., Hama, S.Y., Villa, N., Navab, M., Reddy, S.T.: The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Radic. Biol. Med.*, 38(2): 153-163, 2005.
127. 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: 16-23, 1987.
128. Okutan, H., Özçelik, N., Yılmaz, H.R., Uz, E.: Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rats. *Heart. Clin. Biochem.*, 38(2): 191-196, 2005.
129. Ooms, A.J, Boter, H.L.: Stereospecificity of hydrolytic enzymes in their reaction with optically active organophosphorus compounds: The reaction of cholinesterases and paraoxonase with s-alkyl p-nitrophenyl methyl phosphonothiolates. *Biochem. Pharmacol.*, 12: 1839-1845, 1965.
130. Orsolich, N., Terzic, S., Mihaljevic, Z., Sver, L., Basic, I.: Effects of local administration of propolis and its polyphenolic compounds on tumor formation and growth. *Biol. Pharm. Bull.*, 28: 1928-1933, 2005.
131. Ott, B.R., Lannon, M.C.: Exacerbation of Parkinsonism by tacrine. *Clin. Neuropharmacol.*, 15: 322-325, 1992.
132. Payami, H., Larsen, K., Bernard, S., Nutt, J.: Increased risk of Parkinson's Disease in parents and siblings of patients. *Ann. Neurol.*, 36(4): 659-661, 1994.

133. Peter, J.V., Moran, J.L., Graham, P.: Oxime therapy and outcomes in human organophosphate poisoning: An evaluation using meta-analytic techniques. *Crit. Care Med.*, 34: 502-510, 2006.
134. Pollanen, M.S., Dickson, D.W., Bergeron, C.: Pathology and biology of the lewy body. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 52: 183-191, 1993.
135. Porter, N.A.: Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.*, 105: 273-282, 1998.
136. Primo-Parmo, S.L., Sorenson, R.S., Teiber, J., La Du, B.N.: The human serum paraoxonase/arylesterase gen (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics*, 33: 498, 1996.
137. Przedborski, S., Jackson-Lewis, V.: ROS and Parkinson's Disease: A view to a kill. Poli, G., Cadenas, E., Packer, L., Editors, *Free radicals in brain pathophysiology*, New York, 273-290, 2000.
138. Przedborski, S.: Pathogenesis of nigral cell death in Parkinson's Disease. *Parkinsonism Relat. Disord.*, 11: 3-7, 2005.
139. Qiao, D., Seidler, F.J., Slotkin, T.A.: Oxidative mechanisms contributing to the developmental neurotoxicity of nicotine and chlorpyrifos. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 206(1): 17-26, 2005.
140. Rael, L.T., Bar-Or, R., Aumann, R.M., Slone, D.S., Mains, C.W., Bar-Or, D.: Oxidation-reduction potential and paraoxonase–arylesterase activity in trauma patients. *Biochem. Biophys Res. Commun.*, 361: 561-565, 2007.
141. Reddy, S.T., Wadleigh, D.J., Grijalva, V., Hama, S., Gangopadhyay, A., Shih, D.M., Lusic, A.J., Navab, M., Fogelman, A.M.: Human paraoxonase-3 is an HDL associated enzyme with biological activity similar to Paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 21(4): 542-547, 2001.

142. Rifai, N., Bachorik, P.S., Albers, J.J.: Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Editors, Tietz Textbook of Clinical Chemistry, USA, 809-861, 1999.
143. Robert, L., Nussbaum, M.D., Christopher, E.: Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. N. Engl. J. Med., 348: 1356-1364, 2003.
144. Ross, R.A.C., Jongen, J.C.F., Van Der Velde, E.A.: Clinical course of patients with idiopathic Parkinson's Disease. Mov. Disord., 11(3): 236-246, 1996.
145. Russo, A., Longo, R., Vanella, A.: Antioxidant activity of propolis: Role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. Fitoterapia, 73: 21-29, 2002.
146. Rousselot, D.B., Therond, P., Beaudeau, J.L., Peynet, J., Legrant, A., Delatre, J.: High density lipoproteins and the oxidative hypothesis of atherosclerosis. Clin. Chem. Lab. Med., 37: 939-949, 1999.
147. Saygı, M.: Rotenon modeli ile parkinson oluşturulan sıçanlarda davranışsal değişikliklerin değerlendirilmesi ve bu modelde yeşil çay polifenollerinin etkililiğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniv. Sağlık Bil. Enst., İstanbul, 2010.
148. Schapira, A.H.: Mitochondria in the etiology and pathogenesis of Parkinson's Disease. Lancet Neurol., 7: 97-109, 2008.
149. Schauer, R.: Sialic acids and their role as biological masks. Trends Biochem. Sci., 10: 357-360, 1985.
150. Schober, A.: Classic toxin-induced animal models of Parkinson's Disease: 6-OHDA and MPTP. Cell Tissue Res., 318: 215-224, 2004.

151. Semchuk, K.M., Love, E.J., Lee, R.G.: Parkinson's Disease and exposure to agricultural work and pesticide chemicals. *Neurology*, 42: 1328-1335, 1992.
152. Seth, V., Banerjee, B.D., Bhattacharya, A., Chakravorty, A.K.: Lipid peroxidation, free radical scavenging enzymes and glutathione redox system in blood of human poisoning with propoxur. *Clin. Biochem.*, 33(8): 683-685, 2000.
153. Shankar, J., Andersen, J.K.: Dopaminergic neurons. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 37: 942-946, 2005.
154. Sillanauke, P., Pönniö, M., Jaaskelainen, I.P.: Occurrence of sialic acids in healthy humans and different disorders. *Eur. J. Clin. Invest.*, 29(5): 413-425, 1999.
155. Slotkin, T.A.: Developmental cholinotoxicants: Nicotine and chlorpyrifos. *Environ. Health Perspect.*, 107 (1): 71-80, 1999.
156. Slotkin, T.A., Levin, E.D., Seidler, F.J.: Comparative developmental neurotoxicity of organophosphate insecticides: Effects on brain development are separable from systemic toxicity. *Environ. Health Perspect.*, 114: 746-751, 2006.
157. Sorenson, R.C., Bisgaier, C.L., Aviram, M., Hsu, C., Billecke, S., La Du, B.N.: Human serum paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associated with HDLs by binding phospholipids. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 19: 2214-2225, 1999.
158. Sözmen, E.Y., Mackness, B., Sözmen, B., Durlington, P., Girgin, F.K., Aslan, L., Mackness, M.I.: Effect of organophosphate intoxication on human serum Paraoxonase. *Human Experiment. Toxicol.*, 21: 247-252, 2002.

159. Stanton, M.E., Mundy, W.R., Ward, T., Dulchinos, V., Barry, C.C.: Time dependent effects of acute chlorpyrifos administration on spatial delayed alteration and cholinergic neurochemistry in weanling rats. *Neurotoxicology*, 15(1): 201-208, 1994.
160. Stolon, I., Oros, A., Moldaveanu, E.: Mineral view, apoptosis and free radicals. *Biochem. Mol. Med.*, 59: 93-97, 1996.
161. Sydow, G.: A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. *Biomed. Biochem. Acta.*, 44(11-12): 1721-1723, 1985.
162. Şavik. E.: Ratlara uygulanan chlorpyrifos etil'in öğrenme üzerine olan etkilerinin araştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fak. Biyokimya A.D., Isparta, 2005.
163. Thomas, B., Beal, M.F.: Parkinson's Disease. *Hum. Mol. Genet.*, 16(2): 183-194, 2007.
164. Thomas-Moya, E., Gianotti, M., Liadino, I., Proenza, A.M.: Effects of caloric restriction and gender on rat Paraoxonase 1 activity. *J. Nutr. Biochem.*, 17: 197-203, 2006.
165. Tomas, M., Latorre, G., Sentí, M., Marrugata, J.: The antioxidant function of high density lipoproteins: A new paradigm in atherosclerosis. *Rev. Esp. Cardiol.*, 57(6): 557-569, 2004.
166. Traving, C., Schauer, R.: Structure, function and metabolism of sialic acids. *Cell Mol. Life Sci.* 54(12): 1330-1349, 1998.
167. Uversky, V.N., Li, J., Fink, A.L.: Pesticides directly accelerate the rate of alpha synuclein fibril formation: A possible factor in Parkinson's Disease. *FEBS Lett.*, 500: 105-108, 2001.

168. Van Lenten, B.J., Hama, S.Y., De Beer, F.C., Staffonini, D.M., McIntyre, T.M., Prescott, S.M., La Du, B.N., Fogelman, A.M., Navab, M.: Anti-inflammatory HDL becomes proinflammatory during the acute phase response. *J. Clin. Invest.*, 96: 2758-2767, 1995.
169. Varki, A.: Glycan-based interactions involving vertebrate sialic acid recognizing proteins. *Nature*, 446: 1023-1029, 2007.
170. Vieregge, P., Heberlein, I.: Increased risk of Parkinson's Disease in relatives of patients. *Ann. Neurol.*, 37(5): 685, 1995.
171. Von Bohlen, O., Halbach, O.: Animal models of Parkinson's Disease. *Neurodegenerative Dis.*, 2(6): 313-320, 2005.
172. Vural, N.: Toksikoloji. Ankara Üniv. Ecz. Fak. Yay., 73: 342-373, 1996.
173. Vural, H., Demir, C.V, Yılmaz, N, Eren, İ.: Alzheimer hastalığında total antioksidan kapasitenin araştırılması. *Tıp Araştırmaları Derg.*, 5(2): 63-66, 2007.
174. Wang, X., Bowman, P.D., Kerwin, S.M., Stavchansky, S.: Stability of caffeic acid phenethyl ester and its fluorinated derivative in rat plasma. *Biomed. Chromatogr*, 21: 343-350, 2007.
175. Watson, A.D., Berliner, J.A., Rama, S.Y., La Du, B.N., Faul, K.F., Fogelman, A.M., Navab, M.: Protective effect of high density lipoprotein associated Paraoxonase: Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J. Clin. Invest.*, 96: 2882-2891, 1995.
176. WHO: Organophosphorus Pesticides. Erişim ([Http://www.Who.Org](http://www.Who.Org)). Erişim Tarihi. 21.03.2012.

177. Wooten, G.F., Currie, L.J., Bovbjerg, V.E., Lee, J.K., Patrie, J.: Are men at greater risk for Parkinson's disease than women?. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.*, 75: 637-639, 2004.
178. Yağmurca, M., Erdoğan, H., Iraz, M., Songur, A., Uçar, M., Fadilloğlu, E.: Caffeic acid phenethyl ester as a protective agent against doxorubicin nephrotoxicity in rats. *Clin. Chem. Acta.*, 348: 27-34, 2004.
179. Yanagisawa, M., Yu, R.K.: The expression and functions of glycoconjugates in neural stem cells. *Glycobiology*, 17(7): 57-74, 2007.
180. Yokoyama, H., Jensen, J.S., Myrup, B., Mathiesen, E.R., Ronn, B., Deckert, T.: Raised serum sialic acid concentration precedes onset of microalbuminuria in IDDM. *Diabetes Care*, 19(5): 435-440, 1996.