



**PARKİNSON HASTALIĞI TANISI OLANLARDA APEI
Asp148Glu POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Huriye DÜNDAR

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Elif YEŞİLADA**

Yüksek Lisans Tezi-2022

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PARKİNSON HASTALIĞI TANISI OLANLARDA *APE1* Asp148Glu
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Huriye DÜNDAR

**Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Elif YEŞİLADA**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
TYL-2020-2066 Proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA
2022**

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLOLAR DİZİNİ	xi
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Parkinson Hastalığının Tarihçesi	4
2.2. Parkinson Hastalığının Epidemiyolojisi	4
2.3. Parkinson Hastalığının Etiyolojisi	4
2.4. Parkinson Hastalığının Klinik Özellikleri.....	5
2.4.1. Bradikinezi.....	6
2.4.2. Tremor	7
2.4.3. Rijidite	7
2.4.4. Postural İnstabilite	7
2.4.5. Motor Olmayan Belirtiler	8
2.5. Parkinson Hastalığının Tedavisi	8
2.6. Parkinson Hastalığının Patolojisi.....	9
2.6.1. Mitokondriyal Disfonksiyon.....	10
2.6.2. Demir Metabolizması	11
2.6.3. Nöroinflamasyon	12
2.6.4. Ubikitin-Proteozom Sistemi (UPS)	12
2.6.5. Eksitotoksosite	13
2.6.6. Oksidatif Stres.....	14
2.6.7. DNA Hasarı	15
2.7. DNA Tamir Mekanizması	15

2.7.1. Baz Eksizyon Onarımı (BER).....	15
2.8. DNA Tamir Genleri ve Polimorfizm	18
2.8.1. <i>Apuritik / apirimidinik endonükleaz 1 (APE1)</i> geni ve polimorfizmi.....	18
3. MATERYAL VE METOT	22
3.1. Örneklerin Seçimi	22
3.2. Aletler ve Cihazlar	22
3.3. Sarf Malzemeler.....	23
3.4. Yöntemler	23
3.4.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu.....	23
3.4.2. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	24
3.4.3. <i>APE1</i> Polimorfizmi Belirlenmesi	25
3.5. İstatistiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. <i>APE1</i> Asp148Glu Polimorfizmi Bakımından Gruplarda Genotip ve Allel Frekansının Belirlenmesi	27
4.2. Parkinson Hastalığının Başlama Yaşı ve <i>APE1</i> Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması.....	29
4.3. Parkinson Hastalarında Diskinezi Tipleri ve <i>APE1</i> Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması.....	30
4.4. Parkinson Hastalarının Klinik Tipleri ve <i>APE1</i> Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması.....	30
4.5. Parkinson Hastalarının Klinik Evreleri ve <i>APE1</i> Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması.....	31
4.6. Parkinson Hastalarının Nonmotor Bulguları ve <i>APE1</i> Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması.....	32
4.7. Parkinson Hastalarının Demans Bulguları ve <i>APE1</i> Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması.....	32
4.8. Parkinson Hastalarının Aile Öyküsü ve <i>APE1</i> Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması	33

5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR	41
EKLER.....	50
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	50
EK-2. ETİK KURUL ONAYI.....	51



TEŐEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin süresince deneyimlerinden yararlandığım, her konuda destek olan tez danışmanım, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Elif Yeşilada'ya,

Laboratuvar çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Gonca Gülbay'a

Çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Nöroloji Anabilim Dalından Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Adıgüzel'e,

İstatistik bilgisiyle bana destek veren Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalından Sayın Prof. Dr. Saim Yoloğlu ve Sayın Doç.Dr. Harika Gözde Gözükara Bağ'a,

Tez çalışmama destek veren Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Laboratuvarda desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma,

Zorlu çalışma dönemlerimde desteğini esirgemeyen ve her koşulda yanımda olan sevgili eşim Eşref Dünder'a, bana mutluluk veren güzel kızım Mavi'ye ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Parkinson Hastalığı Tanısı Olanlarda *APE1* Asp148Glu Polimorfizminin Araştırılması

Amaç: Disfonksiyonel mitokondri ve oksidatif stres Parkinson Hastalığının patogenezinin ana bileşenleridir. Oksidatif hasara karşı genomik bütünlüğün korunması, nöronal sağ kalım için oldukça önemlidir. DNA onarım mekanizmasındaki sorunlar kanser, progeria ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Çok fonksiyonlu bir enzim olan AP Endonükleaz 1, DNA tamir mekanizmalarından biri olan BER’de anahtar rol oynamaktadır. AP Endonükleaz I’e şifre veren *APE1* geninde oluşan mutasyonların, çeşitli hastalıklarda rol oynadığı belirtilmektedir. Bu çalışmada PH tanısı olan olgular ile sağlıklı kontrol grubunda *APE1* genindeki Asp148Glu polimorfizminin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Hasta (n=155) ve sağlıklı kontrol gruplarını (n=73) oluşturan bireylerden periferik kan örneği alınarak genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. *APE1* Asp148Glu polimorfizmi bakımından bireylerin genotiplerini belirlemek için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen veriler gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Elde edilen verilere göre, *APE1* Asp148Glu polimorfizmi için genotip ve allel frekansları bakımından hasta ve kontrol grupları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı bulunmuştur. Ayrıca, PH’nın bazı klinik bulguları ile *APE1* Asp148Glu gen polimorfizmi sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı anlaşılmıştır.

Sonuç: Bu çalışmada, *APE1* Asp148Glu polimorfizmi bakımından hasta ve kontrol grupları arasında bir farklılık gözlenmemiştir. Ancak, daha büyük çalışma grupları ile diğer DNA tamir genlerini de içeren çalışmaların yapılması PH’nın genetik etyopatogenezinin anlaşılması bakımından yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: *APE1* geni, DNA onarımı, Parkinson Hastalığı, Polimorfizm

ABSTRACT

Investigation of *APE1* Asp148Glu Polymorphism in Patients with Parkinson's Disease

Aim: Dysfunctional mitochondria and oxidative stress are major components of the pathogenesis of Parkinson's Disease. Preservation of genomic integrity against oxidative damage is very important for neuronal survival. Problems in the DNA repair mechanism have been associated with many diseases such as cancer, progeria and neurodegenerative diseases. AP Endonuclease 1, a multifunctional enzyme, plays a key role in BER, one of the DNA repair mechanisms. It is stated that mutations in the *APE1* gene, which encodes AP Endonuclease I, play a role in various diseases. In this study, it was aimed to investigate the Asp148Glu polymorphism in the *APE1* gene in patients with PD and healthy control groups.

Material and Method: Peripheral blood samples were taken from the patients (n=155) and healthy control groups (n=73) and genomic DNA isolation was performed. Real-time polymerase chain reaction method was used to determine the genotypes of individuals for the *APE1* Asp148Glu polymorphism. The obtained data were statistically compared between the groups.

Results: According to the data obtained, it was found that the difference between the patient and control groups in terms of genotype and allele frequencies for the *APE1* Asp148Glu polymorphism was not statistically significant. In addition, when some clinical findings of PD and *APE1* Asp148Glu gene polymorphism results were evaluated together, it was understood that there was no statistically significant difference between genotypes.

Conclusion: In this study, no difference was observed between the patient and control groups in terms of *APE1* Asp148Glu polymorphism. However, larger study groups and studies including other DNA repair genes will be useful for understanding the genetic etiopathogenesis of PD.

Key Words: *APE1* gene, DNA repair, Parkinson's Disease, Polymorphism

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APE1/APEX1	: Apürinik/Apirimidinik Endonükleaz 1
Asp	: Aspartik Asit aminoasidi
BG	: Bazal Ganglion
BER	: Baz Kesip Çıkarma Tamiri
Glu	: Glutamik Asit aminoasidi
İPH	: İdiopatik Parkinson Hastalığı
H&YE	: Hoehn Yahr Evrelemesi
LC	: Lewy Cisimciği
LP-BER	: Uzun Yama- Baz Kesip Çıkarma Tamir Yolağı
MPTP	: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
MPP+	: 1-metil-4-fenilpiridinyum
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
NMDAR	: N-metil D-aspartat reseptörleri
NO	: Nitrik Oksit
PH	: Parkinson Hastalığı
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
REF 1	: Redoks Efektör Faktör 1
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SN	: Substansiya Nigra
SNe	: Substansiya Nigra Pars Compacta
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
SP-BER	: Kısa Yama-Baz Kesip Çıkarma Tamir Yolağı
UPS	: Ubiquitin-Proteazomal Sistemi
UKBBC	: United Kingdom Brain Bank Criteria
XRCC1	: X Işını Tamamlayıcı Grup1 Enzim
X₂	: Ki-Kare
6-OHDA	: 6-hidroksidopamin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. (1)-Sağlıklı bir bireyin substantia nigra pars compacta'sı(SNc) nöromelanin pigmenti. (2)-PH'sı bir bireyin SNc'deki nöromelanin pigmentinde belirgin azalma. (3)-Sağlıklı bir bireyin SNc'sindeki dopaminerjik nöronların yoğunluğu.(4)- PH'sı bir bireyin SNc'sindeki dopaminerjik nöronların yoğunluğunda belirgin azalma (5)-LC içeren dopaminerjik nöron	10
Şekil 2.2. 6-OHDA, MPTP ve Demirin toksisitesinde yer alan mekanizmalar. 6-OHDA: 6-hidroksidopamin. MPTP: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin. DAT: dopamin taşıyıcısı.....	11
Şekil 2.3. PH'nın oksidatif stres patogenezi.....	14
Şekil 2.4. BER mekanizması	17
Şekil 2.5. APE1'in yapısal özellikleri	19
Şekil 4.1. APE1 Asp148Glu erime eğrisi.....	28

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. PH Klinik Evreleri/Hoehn ve Yahr Skalası	6
Tablo 3.1. LightCycler 2.0 Termal Döngü Programı.....	25
Tablo 4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarında Cinsiyet Dağılımı	27
Tablo 4.2. Hasta ve kontrol gruplarında <i>APE1</i> Asp148Glu polimorfizmi bakımından genotip ve allel frekanslarının dağılımı	29
Tablo 4.3. <i>APE1</i> Asp148Glu'nin farklı genotiplerinde PH'nın başlama yaşı	30
Tablo 4.4. PH'nın farklı diskinezi tiplerinde <i>APE1</i> Asp148Glu genotiplerinin dağılımı	30
Tablo 4.5. PH'nın farklı klinik tiplerinde <i>APE1</i> Asp148Glu genotiplerinin dağılımı ...	31
Tablo 4.6. PH'nın farklı evrelerinde bulunan olgularda <i>APE1</i> Asp148Glu genotiplerin dağılımı	31
Tablo 4.7. PH'nda nonmotor bulgularının durumuna göre oluşturulan gruplarda <i>APE1</i> Asp148Glu genotiplerinin dağılımı	32
Tablo 4.8. PH'nda demans bulgularının durumuna göre oluşturulan gruplarda <i>APE1</i> Asp148Glu genotiplerin dağılımı	33
Tablo 4.9. PH'nın aile öyküsü bulgularının durumuna göre oluşturulan gruplarda <i>APE1</i> Asp148Glu genotiplerin dağılımı	33

1.GİRİŞ

Parkinson hastalığı (PH), 65 yaş ve üzeri nüfusun %2-3'ünde görülen nörodejeneratif hastalıktır. PH'nın nöropatolojik özellikleri, striatal dopamin eksikliğine sebep olan substantia nigra (SN)'daki nöronal kayıp ve α sinüklein kümeleri içeren hücre içi inklüzyonlardır. Alta yatan moleküler patogenez, aksonal taşıma, mitokondriyal disfonksiyon, α sinüklein proteostaz, oksidatif stres, kalsiyum homeostazı ve nöroinflamasyonla ilişkili birçok yolak ve mekanizmayı içermektedir (1). PH patolojisi substantia nigra'nın pars compacta (SNc)'sında bulunan dopaminerjik nöronların kaybı ve Lewy cisimcikleri (LC) adı verilen intra-sitoplazmik inklüzyonlardaki yanlış katlanmış α -sinüklein birikimi ile karakterize edilir. Risk faktörleri yaş, erkek cinsiyet ve bazı çevresel faktörleri içerir. Çoğu hastada hastalığın etiyolojisi bilinmemekle birlikte farklı genetik nedenler tanımlanmıştır. PH'nın ailesel formları vakaların sadece %5-15'ini oluşturmasına rağmen, bu aileler üzerinde yapılan çalışmalar, hastalığın genetiği ve patogenezi hakkında ilginç bilgiler sağlayarak, hastalığın patogenezinde yer alan genlerin tanımlanmasına olanak tanımış ve hastalığın mekanizmaları hakkında kritik bilgiler sağlamıştır. PH'nın temel motor semptomları tremor, bradikinezi/akinezi, rijidite ve postural instabilitedir. Ancak klinik tablo, diğer motor ve nonmotor semptomları içermektedir. Tanısı esas olarak kliniklidir, ancak spesifik araştırmalar diğer parkinsonizm biçimlerinden ayırıcı tanıya yardımcı olabilir (2).

DNA hasarı nörodejeneratif bozukluklara neden olabilir. Bununla birlikte PH'da nörodejenerasyonu tetikleyen mekanizmalar karmaşıktır. PH, uygun motor fonksiyon için gerekli olan SN'nin dopaminerjik nöronlarının dejenerasyonundan kaynaklanır (3). PH oksidatif stres, kronik enflamatuvar yanıtlar, protein toplanması, oksidatif DNA hasarı ve dopaminerjik nöron ölümü dahil olmak üzere dopaminerjik nörondaki diğer nörodejeneratif hastalıklar ile benzer patogenezi paylaşır. Bu mekanizmalarla, disfonksiyonel mitokondri ve oksidatif stres PH'nın patogenezinin ana bileşenleridir. Oksidatif stres, nöronal DNA hasarını geliştirmek için en önemli tehditlerden biri olarak görülmektedir. DNA onarımının etkinliği, nörodejeneratif hastalıkları etkileyen kritik ve ayırt edici bir faktördür (4). İnsan hücrelerinde oksidatif DNA hasarının onarımı için beş DNA onarım sistemi vardır: Doğrudan Onarım, Yanlış Eşleşme Onarımı, Çift İplikçik Kırılma Onarımı, Baz Eksizyon Onarımı (BER) ve Nükleotit Eksizyon Onarımı (NER) (5). BER, ökaryotik hücrelerde okside olmuş DNA bazları, nükleer ve mitokondriyal

DNA'daki tek iplikli kopmalar için birincil onarım mekanizmasıdır. BER'deki bozukluklar çeşitli sendromlar ve yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıklarla bağlantılıdır. Bu nedenle, BER proteinlerinin terapötik müdahale için iyi adaylar olduğu öne sürülmüştür (4). BER, polimeraz aracılı boşluk doldurmanın farklı süreçlerine göre, uzun yamalı BER (LP-BER) ve kısa yamalı BER (SP-BER) olmak üzere iki alt yola ayrılır. SP-BER ve LP-BER, BER'in ilk iki adımı aynıdır: glikosilaz, hasarlı/değiştirilmiş bazı tanır ve çıkarır, apirimidinik endonükleaz 1 (APE1) daha sonra AP bölgesinde şeker-fosfat omurgasını parçalar. Ardından SP-BER, DNA polimeraz β ve ligaz III ile onarımı tamamlar, ancak LP-BER diğer proteinleri içerir. Çoğalan hücre nükleer antijeni, flap endonükleaz 1 ve ligaz I gibi birkaç LP-BER proteini hücre döngüsü ile ilişkili olduğundan ve bölünmeyen hücrelerde aşağı regüle edildiğinden, SP-BER yolunun bölünmeyen hücrelerde baskın onarım mekanizmasını temsil etmesi muhtemeldir (6).

APE1, baz kesip çıkarma tamirindeki anahtar genlerdendir (5). 14q11.2-12 kromozom bölgesinde lokalize olan bu gen 4 intron ve 5 ekzondan oluşmaktadır. *APE1*'den sentezlenen enzim redoks efektör faktörü (Ref-1) olarak da bilinen apuridik/apirimidinik endonükleaz 1 (APEX1)'dir. Bu enzim oksidatif DNA hasarının onarımında rol oynar; hücre sağ kalımı, anjiyogenez ve apoptoz yolu için gen ekspresyonunu kontrol eden transkripsiyon faktörlerinin indirgeme-yükseltgenme (redoks) reaksiyonlarını ve memeli hücrelerinde önemli biyolojik fonksiyonlardan sorumlu olan redoks-bağımsız fiziksel protein-protein etkileşiminin koordine ve kontrolünü sağlar. *APE1* aktivasyonu radyasyon, iske mi, reperfüzyon, reaktif azot türleri (RNS), reaktif oksijen türleri (ROS) ve A β peptidi ile indüklenebilir (7).

APE1'in kanserler, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve serebral iske mi gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkisi araştırılmıştır. Son çalışmalar, *APE1*'in PH patogenezinde de rol oynadığını bildirmiştir. Önceki çalışmalar ayrıca *APE1*'in aşırı ekspresyonunun sitotoksositeyi azalttığını ve oksidatif stres koşulları altında nöronun hayatta kalmasını desteklediğini göstermiştir. Bununla birlikte, *APE1*'in PH'na katkısı bilinmemektedir. Nörodejeneratif hastalıklardan etkilenen bireylerin beyinde DNA hasarı gözlemlendikten sonra, DNA tamir sistemlerinin yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklarda olası rolünün anlaşılmasına artan bir ilgi vardır (8).

Günümüzde Asp148Glu substitüsyonu *APE1*'in en sık rastlanılan ve enzim aktivitesini etkileyen bir varyasyondur (9, 10). Bu durum ekson 5'de G>C ile ilişkili

olarak ortaya çıkar. Bu değişim enzimin endonükleaz aktivitesinin bozulmasına ve diğer enzimler ile ilişkisinin azalmasına neden olarak BER'in etkinliğini bozar (11).

Bu alışmada, PH tanısı olan ve hastalığın çeşitli klinik özellikleri bakımından oluşturulan farklı gruplarda *APE1* Asp148Glu polimorfizminin araştırılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Parkinson Hastalığının Tarihçesi

PH'nı ilk kez, İngiliz Doktor James Parkinson 1817 tarihli "An Essay on the Shaking Palsy" monografisinde tanımlamıştır (12). Parkinson, istirahatte titreme, ayak sürüyerek yürüme, kambur duruş, uyku sorunları ve kabızlık ile başvuran birkaç kişiyi tanımlamıştır. Araştırmacı hastalığın ilerleyici doğasına ve maruz bıraktığı büyük sakatlığa dikkat çekmiş ve buna felç ajitanları adını vermiştir. Charcot, daha sonra hastalığın semptomlar kümesine bradikineziyi ve rijiditeyi ekleyerek durumu Parkinson hastalığı olarak yeniden adlandırmıştır (13).

2.2. Parkinson Hastalığının Epidemiyolojisi

PH, dünyada Alzheimer hastalığından sonra görülen ikinci nörodejeneratif hastalıktır (14). PH genellikle orta ve ileri yaşlarda görülmekle beraber, ortalama 50-60 yaşlarında başlamaktadır (15). PH'nın insidansı 50 yaş öncesi için düşüktür, ancak yaşla birlikte hızla artmaktadır (16). 40 yaşından önce Parkinson başlangıcı, popülasyona dayalı kohortlarda %5'ten az görülür. Daha erken yaşlarda hastalık başlangıcı, genetik varyantlarda görülür. Hastalık erkeklerde kadınlara göre biraz daha sık görülür. Hastalığın prevalansının genellikle 100.000 kişide 100 ile 200 arasında olduğu kabul edilmekte ve yıllık insidansının 100.000 kişide 15 olduğu düşünülmektedir (17). Ülkemizde Eskişehir'de yapılan bir çalışmada ise prevalans değeri 111/100000 olarak belirtilmiştir (18). 2015'te yayınlanan başka bir çalışmada prevalans 202/100.000 olarak hesaplanmıştır (19).

2.3. Parkinson Hastalığının Etiyolojisi

PH, genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı bir hastalıktır. PH genellikle idiyopatik bir bozukluk olmasına rağmen, aile öyküsü bildiren azınlık bir vakada (%10-15) yaklaşık %5'inde Mendel kalıtımı vardır. PH'na neden olduğu tespit edilen genlere, tanımlandıkları sıraya göre "PARK" adı verilir. Bugüne kadar 23 PARK geni PH ile ilişkilendirilmiştir. PARK genlerindeki mutasyonlar ya otozomal dominant (örn. SNCA, LRRK2 ve VPS32) ya da otozomal resesif kalıtım (örn. PRKN, PINK1 ve DJ-1) gösterir. Bu genlerin bazılarının katılımı kesin olarak doğrulanmamıştır (PARK5, PARK11, PARK13, PARK18, PARK21 ve PARK23), diğerleri ise risk faktörleri olarak kabul edilmektedir (PARK3, PARK10, PARK12, PARK16 ve PARK22) (20). PH için çevresel risk faktörleri ise pestisitler, endüstriyel ajanlar, karbon monoksit, kırsal kesimde yaşam,

metaller (mangan, cıva, demir) ve kuyu suyu kullanımı olarak rapor edilmektedir (21). 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP), nigral dejenerasyona neden olarak, PH'nın çevresel bir toksinden kaynaklanabileceğini göstermiştir. Birkaç çalışma, pestisitlerle PH arasında ilişki olduğunu bildirmiştir; bir vaka kontrol çalışması, erkeklerde profesyonel pestisit maruziyeti ve geç başlangıçlı PH ile artan bir ilişki olduğunu göstermiştir (20). Kırsal kesimlerde ve tarım alanlarında yaşayan, parakuat ve maneb türevi tarım ilaçlarının genç başlangıçlı PH'nın görülme riskini arttırdığı bulunmuştur. PH'nın diğer çevresel etkenlerinden olan kurşun, manganez ve demir gibi ağır metallerin özellikle SN'da birikerek oksidatif strese neden olduğu belirtilmektedir (22). Bununla birlikte kahve, çay ve sigara içmenin PH'na karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir (23).

2.4. Parkinson Hastalığının Klinik Özellikleri

PH'nın kardinal motor belirtileri ortaya çıkmadan önce, nigro-striatal sistemdeki dopaminerjik hücrelerin %80'ine kadar kaybolduğu tahmin edilmektedir. Hastalık genellikle ilk motor semptomlarla teşhis edilmektedir. Tanı, İngiltere Parkinson Hastalıklığı Cemiyeti Beyin Bankası (UPDRS)'ndan tanımlanmış kriterlere dayanmaktadır. İstemli hareketlerin başlamasında yavaşlık, tekrarlayan eylemlerin hızında ve amplitüdünün azalması (bradikinezi) ile birlikte bir ek semptom, yani kas sertliği (rijidite), istirahat tremoru veya postural instabilite tanı için bir ön koşuldur. Tanıda 2. adım, kendi nöropatolojik değişikliklerine sahip Parkinson sendromları gibi diğer etiyojileri gösterebilecek semptomları dışlamak ve 3. adım, semptomların tek taraflı başlangıcı, klinik semptomların kalıcı asimetrisi, levodopa tedavisine iyi yanıt ve diskinezilerin dopaminerjik tedavi ile indüklenmesi gibi PH için en az üç destekleyici kriteri tespit etmektir. Çoğu durumda, semptomlar vücudun bir tarafında başlar ve kontralateral semptomlar birkaç yıl içinde ortaya çıkar. Vücut duruşu kamburlaşır, çark fenomeni olan veya olmayan eksenel ve uzuv rijiditesi, ayak sürüyerek yürüme ve yürürken kol sallama eksikliği vardır. Bradikinezi, ifadesiz yüze (hipomimi) yol açabilir ve el yazısının genlikleri küçülür (mikrografi). Yaklaşık %80'inde uzuv titremesi vardır, bu genellikle istirahat halindeki bir el titremesidir. Hap yuvarlama, başparmak ve işaret parmağının temas etme ve dairesel bir hareket yapma eğilimi ile ilgilidir. Postural stabilite hastalık sürecinde erken veya geç dönemde etkilenebilir bu da düşme ve yaralanmalara neden olabilir (24).

Klinik gözleme dayanarak PH'nin en yaygın ampirik gruplandırmaları şöyledir: tremor dominant, non tremor dominant (postural instabilite yürüyüş bozukluğu veya akinetik-rijit) ve erken ila geç başlangıçtır (25). Tremor dominant PH'ları iyi bir prognoz sergiler ve yavaş ilerler. Non tremor dominant PH'ları ise hızlı ilerler ve kötü prognoza sahiptir. Ayrıca, non tremor dominant PH'larının tremor dominant PH'larına göre daha düşük bir yaşam kalitesi olduğu bildirilmiştir (26).

PH nörodejeneratif ilerleyici bir hastalıktır ve hastalığın şiddetini belirleyebilmek için klinik evreleme yapılmaktadır. Klinik evrelemeyi yaparken, 1967'de Margaret Hoehn ve Melvin Yahr tarafından geliştirilen Hoehn ve Yahr skalası kullanılmaktadır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. PH Klinik Evreleri/Hoehn ve Yahr Skalası (27)

Evreler	Semptomlar
Evre 1	Tek taraflı tutulum, genellikle minimal veya hiç fonksiyonel kaybı yoktur
Evre 2	Denge bozukluğu olmaksızın bilateral veya orta hat tutulumu
Evre 3	Bilateral hastalık: bozulmuş postural refleksler ile hafif ila orta derecede sakatlık; fiziksel olarak bağımsız
Evre 4	Ağır derecede sakat bırakan hastalık; hala yardımsız yürüyebiliyor veya ayakta durabiliyor
Evre 5	Yardım edilmediği sürece yatağa veya tekerlekli sandalyeye bağımlı

2.4.1. Bradikinezi

Bradikinezi, PH'nin en karakteristik klinik özelliğidir ve hareketin yavaşlığını ifade eder. Bradikinezi, bazal ganglion bozukluklarından; planlama, hareket başlatma, yürütme ile sıralı ve eşzamanlı görevleri gerçekleştirmedeki zorlukları kapsamaktadır. Bradikinezinin, azalmış dopaminerjik fonksiyonun aracılık ettiği normal motor korteks aktivitesindeki bir bozulmanın sonucu olduğu varsayılmaktadır. Bradikinezinin PH'nin en kolay tanınabilir semptomlarından biri olduğu göz önüne alındığında, herhangi bir nörolojik muayeneden önce ortaya çıkabilir. Bradikinezinin değerlendirilmesi genellikle hastaların hızlı, tekrarlayan, değişen el ve topuk vuruşları yapmasını ve sadece yavaşlığın değil aynı zamanda amplitüdünün azalmasının da gözlemlenmesini içerir (28).

Bradikinezi, PH'nin en temel belirtisidir. UPDRS'ye göre PH tanısı için bradikinezinin varlığı şarttır (29). Bradikinezi kendini en iyi yürümedeki değişikliklerle

göstermektedir. Yürürken kolları sallamada azalma, ayakları sürükleyerek küçük adımlarla yürüme, adım uzunluğunun ve yüksekliğinin azalması gibi bulgular muayenede gözlenir (30). Bradikinezinin diğer belirtileri arasında spontan hareketler ve jestlerin kaybı, hipofonik ve monotonik dizartri, yüz ifadesi kaybı (hipomimi), yutma bozukluğu nedeniyle salya akması, göz kırpmada azalma ve yürürken kol salınımında azalma sayılabilir. Diğer parkinson semptomlarında olduğu gibi bradikinezi de hasta emosyonel durumlardan etkilenebilmektedir. Örneğin; hareketsiz bir hasta, aniden kendisine atılan topu yakalamak gibi hızlı hareketler yapabilirler. Buna “paradoksal kinezi” denir (28).

2.4.2. Tremor

Tremor, semptomatik fazda en sık tanımlanan belirtidir. Esas olarak, dinlenme halindeyken üst ekstremitelerin distal kısımları ile ilgilidir. Tam bir kas gevşemesi ile düşük frekanslı (4 ila 6 Hz) ve amplitüdün düzenli salınımları ile karakterize edilir, parmakların ve ellerin abduksiyonundan ve adduksiyonundan oluşur. Dinlenme tremoru ayrıca bacakları, çeneyi ve dudakları da etkileyebilir (31). Parkinson hastalarının yaklaşık %75 inde görülür (32).

2.4.3. Rijidite

PH'nın dört kardinal bulgusundan birisi olan rijidite(sertlik), herhangi bir eklemden pasif harekete karşı oluşan, artmış kas tonusudur (33). Özellikle altta yatan bir tremor ile ilişkili olduğunda, genellikle bir "dişli çark" fenomeninin eşlik ettiği artan direnç ile karakterize edilir. Bu durum bir uzvun pasif hareketi (eklem etrafında fleksiyon, ekstansiyon veya rotasyon) boyunca mevcuttur. Proksimalde (örneğin boyun, kalçalar, omuzlar) ve distalde (örneğin bilekler ve ayak bilekleri) ortaya çıkabilmektedir (28).

2.4.4. Postural İnstabilite

Postural instabilite, normalde ayakta veya otururken otomatikman devreye giren ve alınan vücut pozisyonunun devam etmesini sağlayan postural reflekslerin kaybına bağlı gelişen bir denge bozukluğudur (34). Postural instabilite PH'nın geç evrelerinde görülen bir belirtidir. Genellikle diğer klinik özelliklerin başlamasından sonra ortaya çıkmaktadır. Hastalara, omuzları tarafından hızla geriye veya ileriye doğru çekildiği çekme testi uygulandığında, hastaların geriye doğru iki adımdan fazla adım atması yada herhangi bir postural yanıtın olmaması, anormal bir postural yanıtın olduğunu göstermektedir. Postural dengesizlik düşmelerin en yaygın sebebidir ve kalça kırığı riskini önemli ölçüde arttırmaktadır (28).

2.4.5. Motor Olmayan Belirtiler

PH tremor, bradikinezi, rijidite ve postural instabilite ile karakterize bir motor bozukluk olarak kabul edilmiştir. Ancak psikoz, depresyon, kognitif bozukluk, demans, otonomik bozukluklar ve uyku bozuklukları gibi motor olmayan belirtiler sıklıkla hastalığın seyrini zorlaştırmaktadır (35).

PH'nın klinik tanısı, daha önce bahsedilen motor belirtilerin varlığına dayanır ancak bu belirtiler geç tanı olarak nitelendirilir. Bununla birlikte, başlangıçta asemptomatik olan ve nörodejenerasyonun gelişimine bağlı olarak, hastalığın evrimiyle komplike olacak motor dışı semptomlara neden olan bir prodromal faz (motor semptomların başlamasından önce) vardır. Motor olmayan semptomlar PH'nın yaşam kalitesi üzerindeki etkileri nedeniyle büyük önem taşırlar. Bunlar: anksiyete ve depresyon, apati, bilişsel eksiklikler, görme ve koku alma bozuklukları, uyku bozuklukları, kilo kaybı ve sindirim bozukluklarıdır (31).

Demans, özellikle yaşlılıkta, PH olan hastalarda giderek artan bir özellik olarak kabul edilmektedir. PH'da demans prevalansı %30'a yakındır ve insidansı genel yaşa uygun popülasyona göre 4 ila 6 kat artmıştır. Ana risk faktörleri, yaşlılık, motor bozukluğun şiddeti ve temel değerlendirmede bozulmuş bilişsel işlevlerdir (36).

2.5. Parkinson Hastalığının Tedavisi

PH motor semptomlarının semptomatik tedavisi, farmakoterapi, derin beyin stimülasyonu ve fizyoterapi kullanılarak optimize edilmiştir. Farmakoterapide kullanılan ilaçlar; Levodopa, monoamin oksidaz (MAO)-B ve katekol-o-metiltransferaz (COMT) inhibitörleri, dopamin agonistleri ve amantadindir.

Oluşan dopaminerjik açığın semptomatik ilk ve en etkili tedavisi, bir dekarboksilaz inhibitörü ile sabit kombinasyon halinde L-Dopa'dır. L-Dopa'nın etkileri doza bağlıdır (37). Bununla birlikte levodopa'nın hastanın yaşam kalitesini bozabilen motor komplikasyonlara (diskineziler ve motor dalgalanmalar) neden olduğu ve zamanla etkinliğinin giderek azaldığı bilinmektedir. Ayrıca PH'nın aksiyel motor semptomları (postural instabilite, dizartri, disfaji, fleksör postür, palilali, donma) ile tremor üzerinde etkisinin sınırlı olduğu bilinmektedir. Uzun süreli levodopa kullanıldığı zaman hastalarda, ilacın etki süresinin kısalmasına bağlı olarak gelişen bir dozun etkisinin diğer dozu yakalayamadığı (doz sonu fenomeni 'wearing off') dönemler görülür. Daha sonra "on-off" fenomeni denilen PH semptomlarının görülmediği iyi ("on") ve semptomların

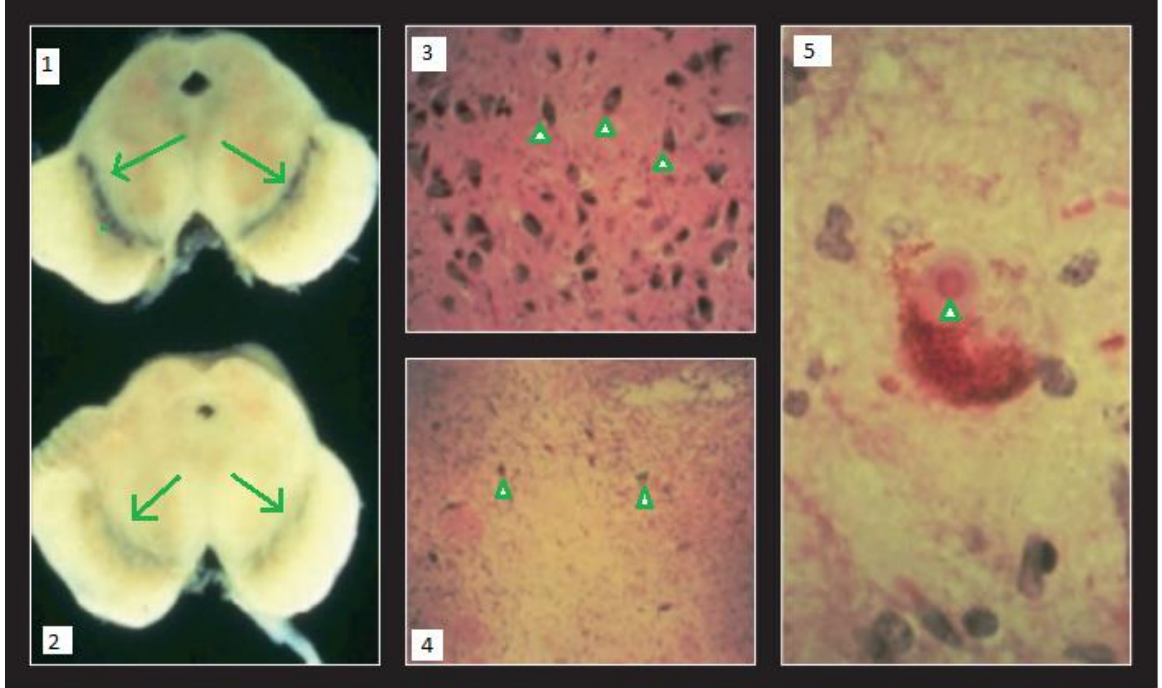
görüldüğü kötü ("off") dönemlerin oluşmasına neden olabilir. Levodopa tedavisinin ilerleyen dönemlerinde gelişebilen motor komplikasyonları arasında diskineziler (tepe dozu ve difazik) ve distoni de önemli bir sorun oluşturmaktadır (15).

Levodopanin neden olduğu diskinezi, 5 yıllık levodopa tedavisini takiben hastaların %40-60'ında görülen genellikle koreiform olan ancak aynı zamanda distonik, balistik, stereotipik veya miyoklonik olabilen hiperkinetik istemsiz hareketlerdir (38, 39). Diskinezi sıklıkla yüz, servikal ve ekstremiteler kaslarını, bazen de gövde, oküler ve solunum kaslarını etkiler. Hasta ilacı aldıktan sonra levodopanin en etkin olduğu zaman ortaya çıkan diskinezilere "tepe dozu diskinezileri"; ilacın etkisinin oluşmaya başladığı ve etkisinin kaybolurken görülen diskinezilere "difazik diskineziler"; off dönemlerinde veya sabahın erken saatlerinde ortaya çıkan diskinezilere "off diskinezileri" denir (39).

2.6. Parkinson Hastalığının Patolojisi

PH, ekstrapiramidal sistem tutulumuyla karakterize bir hastalıktır. Ekstrapiramidal sistemde bazal gangliyonlar ana oluşumlardır (40). Bazal ganglion yapıları klinik ve fonksiyonel yönden 5 çift temel çekirdekten oluşur. Bunlar; nucleus caudatus, putamen, globus pallidus, substantia nigra ve nucleus subtalamikus'tur (41). PH'nın en önemli patolojik özelliği, SNc içindeki dopaminerjik nöronların kaybıdır (Şekil 2.1). SNc'nin en çok etkilenen bölgesi striatumun dorsal putamenindeki nöronları içeren ventrolateral katmandır. Klinik-patolojik bağıntılı çalışmaların sonuçları, bu alandaki orta ila şiddetli dopaminerjik nöronal kaybın, özellikle ilerlemiş PH'da motor özelliklerin, bradikinezinin ve rijiditenin sebebi olduğunu göstermiştir (42). PH'da belgelenmiş en erken patolojik değişiklikler medulla oblongata/pontin tegmentum ve olfaktor bulbusta gözlenmiştir. Bu erken evrelerde (Braak Evre 1 ve 2) hastalar pre-semptomatiktir. Hastalık ilerledikçe (Braak evre 3 ve 4) SN, orta beyin ve bazal ön beyin alanları dahil olur. Son olarak, patolojik değişiklikler neokortekste görülür. Bu patolojik evreleme, LC'nin dağılımına dayanmaktadır (43). Braak ve meslektaşları, periferik sinir sisteminden başlayarak, merkezi sinir sistemini beyin içinde kaudalden rostrale doğru kademeli olarak etkileyen altı aşama önermişlerdir. Braak modeli Lewy patolojisinin ilerleyişini göstererek PH'nın klinik seyrini açıklamaya yardımcı olmaktadır. Spesifik olarak, evre 1 ve evre 2, hastalığın premotor semptomlarının başlangıcına, evre 3, nigrostriatal dopamin eksikliği nedeniyle motor bulguların mevcut olduğu faza ve evre 4-6, ileri dönem hastalığa ve motor olmayan bulgulara karşılık gelmektedir (42). LC, PH'nın patolojik özelliğidir. Proteolizden sorumlu proteinlerle birlikte bir dizi nörofilament

proteinden oluşan α -sinüklein immünoreaktif inklüzyonlardır. Bunlar, parçalanmak üzere diğer proteinleri hedeflemede önemli bir rol oynayan bir ısı şoku proteini olan ubiquitin'i içerir (43). Lewy patolojisi olarak adlandırılan α -sinüklein, nöronal perikaryonda yuvarlak eozinofilik inklüzyonlar olan LC ile tiplendirilir. Bu inklüzyonlar yoğun bir hiyalin görünümüne veya daha az kompakt bir görünüme sahip olabilir (40).



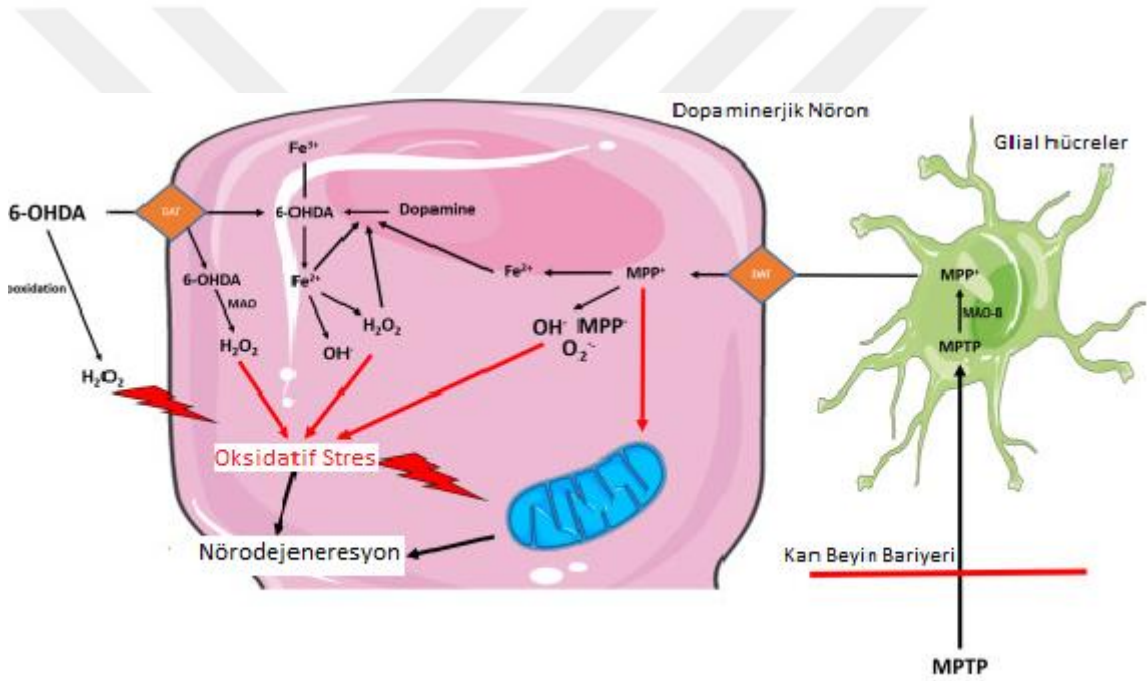
Şekil 2.1. (1)-Sağlıklı bir bireyin substantia nigra pars compacta'sı(SNc) nöromelanin pigmenti. (2)-PH'sı bir bireyin SNc'deki nöromelanin pigmentinde belirgin azalma. (3)-Sağlıklı bir bireyin SNc'sindeki dopaminerjik nöronların yoğunluğu. (4)- PH'sı bir bireyin SNc'sindeki dopaminerjik nöronların yoğunluğunda belirgin azalma (5)-LC içeren dopaminerjik nöron (44)

PH'daki nörodejenerasyon mekanizmalarını anlamak için çok sayıda hücresel bozukluk süreci önerilmiştir. Bu süreçler arasında; oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon, inflamatuvar faktörler, demir metabolizması, otofaji ve ubiquitin/proteazom disfonksiyonu sayılabilir (31).

2.6.1. Mitokondriyal Disfonksiyon

Mitokondriyal disfonksiyon ile PH'nın doğrudan bağlantısı, nörotoksik olan MPTP ve 6-OHDA'nın bulunmasıyla kurulmuştur (31). Mitokondriyal disfonksiyonun nedenleri arasında kaspaz salınımı, aşırı ROS üretimi, mtDNA silinmesi, ATP tükenmesi ve elektron transport sisteminde meydana gelen bozulmalar bulunmaktadır (22). Dopaminerjik nöronlarda 6-OHDA birikimi ATP seviyelerinde azalmaya yol açan mitokondriyal değişikliklere (mitokondriyal solunum zinciri kompleksi I'in inhibisyonu,

oksidatif fosforilasyon zincirinin ayrılması ve mitokondriyal membran potansiyelinin azalması) ve makromoleküllere zarar veren hücre yapısının düzensizleşmesine katılan ROS oluşumuna neden olur (Şekil 2.2). MPTP, glial hücrelerde bulunan MAO-B ile aktif metaboliti olan 1-metil-4-fenilpiridinyum (MPP⁺)'ya dönüştürülür, MPP⁺ daha sonra mitokondriyal solunum zincirinin kompleks I'ni inhibe ettiği dopaminerjik nöronlar tarafından yakalanır, ROS sentezini artırır ve nöronal ölüme neden olur (31). ROS üretimi kompleks I ve III'ün hasarını indükler. Ayrıca mitokondri ve sitoplazmada da proteinlerin oksidasyonunu indükler. Bu durum mitokondriyal disfonksiyonun oluşmasına neden olmaktadır. Oksidatif stresin artması, ubiquitin-proteazomal sistemi (UPS) aşırı aktive ederek hasar görmüş ve yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine neden olmaktadır (22).



Şekil 2.2. 6-OHDA, MPTP ve Demirin toksisitesinde yer alan mekanizmalar. 6-OHDA: 6-hidroksidopamin. MPTP: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin. DAT: dopamin taşıyıcısı (31)

2.6.2. Demir Metabolizması

Normal beyinde bulunan demir konsantrasyonu, hem hücre türüne hem de bölgesel olarak heterojen bir dağılım göstermektedir. Yaşlanmayla beraber insan beyindeki toplam demir konsantrasyonu globus pallidus, substantia nigra, kaudat çekirdek ve putamende artmaktadır (45). Demir iyonu, beyin yüksek solunum hızının yanı sıra miyelinasyon, gen ekspresyonu ve nörotransmitter sentezini desteklemek için gereklidir. Demir iyonu yaşam için gereklidir, ancak aynı zamanda protein agregasyonu, serbest radikal üretimi ve oksidatif stres gibi çeşitli nörodejeneratif mekanizmalarda rol

oyunlar. Demir birikimi; ROS, DNA, protein ve fosfolipid oksidasyonunun aşırı üretimine neden olarak yapısal ve fonksiyonel hasara yol açmaktadır. PH'daki demir içeriği, normal yaşlanma ile beklenenden daha yüksektir. Eksitotoksisite PH'da rol oynayabilir ve demir birikimine yol açabilir. Demir alımı, nitrik oksit (NO) sinyali yoluyla N-Metil-D-Aspartat (NMDA) reseptör aktivasyonu ile artar. PH'da meydana geldiği öne sürülen eksitotoksik ölümden hem glutamat hem de NO rol oynar; bu nedenle, bu bozuklukta demir birikimi, glutamat reseptörleri yoluyla nöronal ölümlerle ilişkilendirilebilir (46).

Demir PH'da biriktiğinde, oksidatif stres yoluyla nöronal ölümü artırabilir. Demir, lipid peroksidasyonunu indükler ve 6-OHDA oto-oksidasyonu ile ROS üretimini artırır. Demir ayrıca hücre içi a-sinüklein kümelerinin oluşumunu uyarır ve oksidatif hasarı destekler (46).

2.6.3. Nöroinflamasyon

PH'da nöroinflamasyonun postmortem yapılan çalışmalarda mikroglia adı verilen hücrelerden kaynaklandığını göstermektedir. Merkezi sinir sistemi hücrelerinden mikroglia hücreleri myeloid hücre kökeninden gelmektedir. Bu kökenleri sebebiyle makrofajlar şeklinde ekspres edilerek zarar görmüş hücrelerin ve yabancı maddelerin fagositozunu gerçekleştirebilmektir (22). PH'da beyindeki inflamatuvar değişiklik kavramı, SNC'de aktive edilmiş HLA-pozitif mikroglia tanımıyla başlamıştır. Daha sonra, beyin ve beyin omurilik sıvısında sitokinler interlökin-1 α (IL-1 α), IL-1 β ve tümör nekroz faktörü- α değişiklikleri bulundu. Postmortem çalışmalar, aktive edilmiş mikroglialda indüklenebilir NO sentazın bulunduğunu göstermiştir. İndüklenebilir NO sentaz bir NO kaynağıdır ve bu da yüksek oranda reaktif peroksinitriti oluşturmak için glial veya nöronal kaynaklardan gelen süperoksit ile reaksiyona girebilmektedir. Mikroglia aktivasyonu ve inflamatuvar değişikliğin nöronal yıkımın bir sonucu olduğu düşünülmüştür, ancak PH'da daha genel bir sistemik inflamatuvar reaksiyonu vardır ve bunun bazı durumlarda nöronal kaybın birincil nedeni olduğunu düşündürmektedir. Ek olarak, periferik inflamasyon, substantia nigra'da meydana gelen inflamatuvar değişikliğin olumsuz etkilerini artırabilir (47).

2.6.4. Ubikitin-Proteozom Sistemi (UPS)

UPS, en önemli protein degradasyon yollarındandır. Sağlıklı nöronlarda normal şartlar altında hücresel kontrol mekanizmalarıyla protein agregatları oluşmamaktadır.

Hücre içerisinde hatalı katlanmış ve bozulmuş proteinlerin agregasyonu iki farklı şekilde olmaktadır: Bir, mutasyona uğrayan, anormal ve okside olan proteinlerin degrades edilemeyecek kadar fazla olması. İki, proteozomal sistem fonksiyonunun azalması veya bozulmasıdır. UPS, hücreleri bu şekilde oluşan hatalı proteinlerden kurtaran en önemli mekanizmadır (48).

Ubikitin, karboksil terminusu ile hedef proteinlerin lizin kalıntısının amino grubu arasında bir izopeptit bağının oluşturulmasıyla spesifik proteinlere kovalent olarak konjuge edilebilen 76 amino asitlik bir polipeptittir. Bu işlem E kısaltmasıyla gösterilen ve 3 sınıftan oluşan enzim ailesi ile kontrol edilir (49). E1 enzimi ubikitini aktive etmektedir. Hücrede inaktif formda bulunan ubikitin, E1 enzimi ile birleşerek aktif forma geçmektedir. Ubikitin oluşan kompleks üzerinden ubikitin konjuge edici enzim olan E2'ye aktarılmaktadır. Ubikitin ligaz enzimi olan E3 ise E2 enziminin yıkılarak hedef proteinin ubikitinle işaretlenmesini sağlamaktadır. Ubikitinlenmiş olan hedef protein proteozomal kompleks tarafından parçalanarak degrades edilmektedir (22).

Ubikitinasyon işlemi ayrıca hücreler arası iletişim, endositoz, inflamatuvar sinyalleri, protein-protein etkileşimleri, DNA tamiri ve otofaji gibi non proteolitik fonksiyonlarda da görev almaktadır. Mutasyona uğramış α -sinüklein proteinlerinin degradesyonundanda UPS sorumludur. UPS fonksiyonelliğini yitirdiğinde anormal protein birikimi olabilmekte ve hücre ölümü gerçekleşebilmektedir (22).

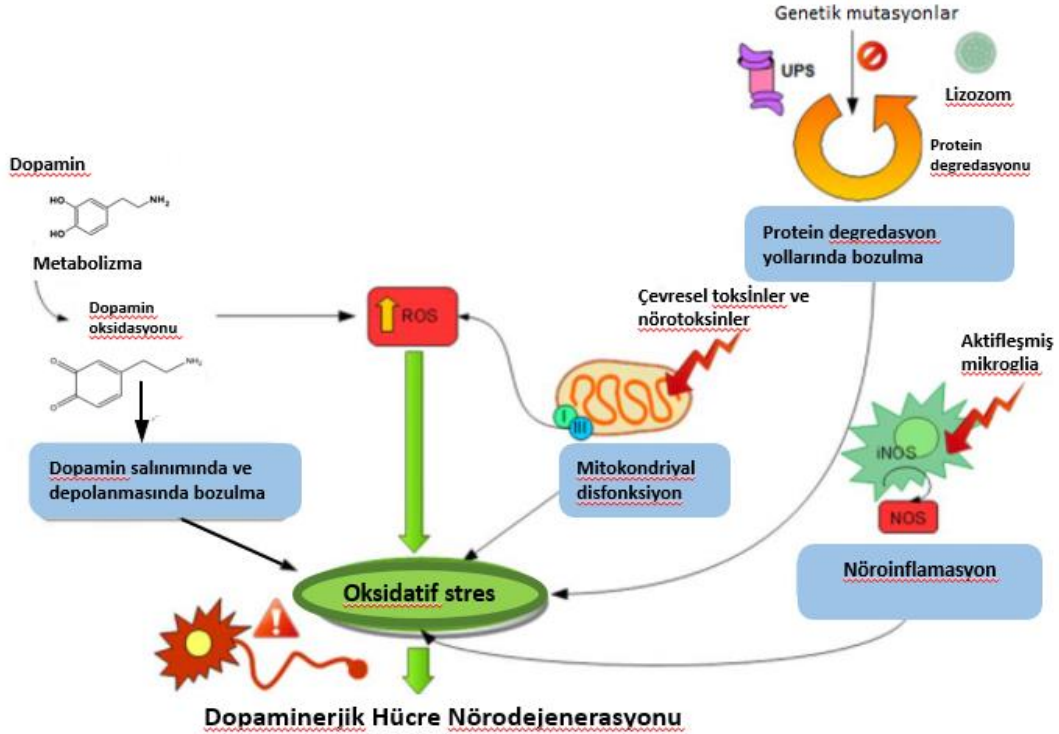
2.6.5. Eksitotoksisite

Eksitotoksisite, PH'da nigrositriatal dejenerasyonun artmasına ve şiddetlenmesine neden olmaktadır. Glutamat gibi maddeler, iyonotropik reseptörlerin aşırı uyarmasıyla nöronal hücrelere zarar verip bu hücreleri ölüme götürebilmektedir. Bu da ROS ve RNS (reaktif nitrojen türleri) oluşumunda, hücre içi Ca^{+2} 'un korunmasında ve mitokondrideki geçiş porlarının aktivasyonunda bozulmalara sebep olur. Glutamata bağlı gelişen eksitotoksisitede, kalsiyum yüklemesi ve mitokondri membran potansiyelinin çökmesi gibi nöronları ölüme götüren iki ana mekanizma vardır. Glutamatın eksitotoksik mekanizması, özellikle glutamat reseptörü NMDAR (N-metil D-aspartat reseptörleri)'ların aşırı aktivasyonu ve Ca^{+2} 'un yoğun akımı sonucunda Ca^{+2} bağımlı sinyal yollarının hiperaktivasyonudur. Bu değişiklikler NMDAR nörodejenerasyonun hızlanmasına neden olmaktadır. Ayrıca bu durum mikroglial aktivasyonun artması,

inflatuar sitokinlerinin salınmasına, sonrasında da nöroinflamasyon ve dejenerasyona sebep olabilmektedir (22).

2.6.6. Oksidatif Stres

Biyolojik sistem aktivitelerinin devam edebilmeleri için serbest radikallerin oluşması ve ortadan kaldırılması arasındaki dengenin sağlanması gerekir. Bu dengenin bozulması durumunda nörodejenerasyona sebep olabilecek serbest radikallerin oluşması nedeniyle ortaya çıkan patolojik süreç oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikaller; ROS ve RNS olarak ikiye ayrılır. Mitokondri dâhil bütün hücrelerde oksidatif fosforilasyonla üretilirler. ROS nedeni ile oluşan oksidatif stres DNA hasarına ve lipid peroksidasyonuna sebep olabilir. Beyin, kandaki oksijenin %20'sini kullanabildiğinden beyin hücreleri ROS üretimine karşı aşırı duyarlıdır. RNS ve ROS'lar antioksidanların yardımıyla vücuttan uzaklaştırılır böylece organizma oksidatif stresten korunmuş olur. Glutasyon, beyni oksidatif stresten korumaktadır. Normal şartlarda oluşan ROS'lar glutasyon redüktaz ile detoksifiye edilir. PH'da, SN'de ROS detoksifiye edilemezse, serbest demir iyonları ile hidroksil radikalleri oluşturarak dopaminerjik nöronlarda dejenerasyona sebep olur (Şekil 2.3) (22).



Şekil 2.3. PH'nın oksidatif stres patogenezi (50)

2.6.7. DNA Hasarı

Genomik DNA, çevresel faktörler (örneğin iyonlaştırıcı radyasyon, UV, kimyasal ağır metaller), normal metabolik ürünler ve hücre replikasyonu tarafından kolayca ve sürekli olarak modifiye edilen ve hasar gören kararsız bir moleküldür (6). Prokaryot ve ökaryot organizmaların genetik materyali, sayısız endojen metabolit ve eksojen ajan tarafından sürekli olarak saldırıya uğrar (4). Onarılmamış DNA hasarının birikmesi kansere, nörodejenerasyona, yaşlanmaya ve apoptotik hücre ölümüne yol açar. Yapılan çalışmalarda nörodejeneratif hastalıklar, felç, beyin travması ve psikolojik bozukluklarda oksidatif DNA hasarının arttığını göstermektedir (6, 51, 52).

DNA'da oluşan hasarlar; tek baz değişimi (insersiyon, depürinasyon, delesyon, deaminasyon, baz alkilasyonu vs), aynı DNA zincirleri veya farklı DNA zincirleri arasında çapraz bağlanma, çift zincir kırıkları, tek zincir kırıkları gibi çeşitli şekillerde olabilmektedir. DNA hasarın yoğunluğuna ve tipine bağlı olarak; hücre siklusunun durdurulması, gen ekspresyonunun değiştirilmesi, DNA tamirinin uyarılması, programlı hücre ölümünün aktif hale getirilmesi gibi birçok hücresel yanıt tetiklenmektedir (53). DNA onarımının etkinliği, nörodejeneratif hastalıkları etkileyen kritik ve ayırt edici bir faktördür (4).

2.7. DNA Tamir Mekanizması

Bir memeli genomunda yaklaşık olarak her gün 10^4 'ten daha çok DNA hasarının oluştuğu tahmin edilmektedir (53).

DNA hasarına yanıt olarak organizmalar, DNA bütünlüğüne yönelik tehditleri ortadan kaldırmak için çok sayıda onarım mekanizmaları geliştirmiştir. Memeli hücrelerinde, baz eksizyon onarımı (BER), nükleotid eksizyon onarımı (NER), doğrudan onarım, homolog rekombinasyon onarımı (HR) ve homolog olmayan uç birleştirme onarımı (NHEJ) olmak üzere birçok DNA onarım mekanizması vardır. DNA onarım mekanizmalarındaki başarısızlıklar veya kusurlar, kanser, progeria ve nörodejeneratif bozukluklar gibi birçok hastalık ile ilişkilendirilmiştir (4).

2.7.1. Baz Eksizyon Onarımı (BER)

BER yolu, minör sarmal bozulmalarına sebep olan endojen DNA lezyonlarının giderilmesinde ana mekanizmadır. BER, nitrozaminlerden alkilasyonlar ve iyonlaştırıcı radyasyondan kaynaklanan çevresel ajanların neden olduğu benzer tipteki baz hasarının onarımı için gereklidir. Endojen hasar kaynakları arasında sitozinin hidrolitik

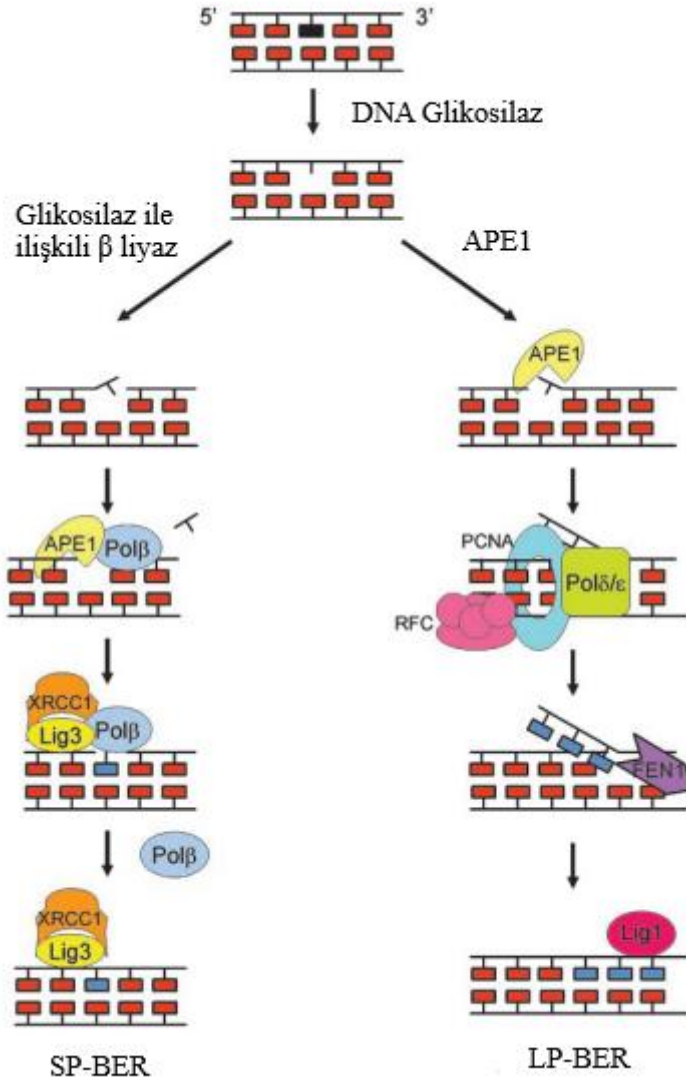
deaminasyonu, adenin ve guanin gibi hidrolitik işlemlerden kaynaklanan DNA hasarı ve hidrolitik baz kaybı (çoğunlukla pürinler), ROS (örneğin hidroksil radikalleri) tarafından oksidasyon ve S-adenosilmetiyonin gibi endojen alkilleyici ajanlar bulunur (54). BER, ökaryotik hücrelerde okside olmuş DNA bazları, nükleer ve mitokondriyal DNA'daki tek iplikli kopmalar için birincil onarım mekanizmasıdır (4). BER, oksidasyon, deaminasyon ve alkilasyondan kaynaklanan DNA hasarını düzeltir (55).

BER'in 4 ana adımı vardır. Bunlar baz çıkarma, AP bölgesinin kesilmesi, sentezi ve ligasyonu. Ayrıca DNA glikosilazları, APE1, DNA polimerazları ve DNA ligazları da BER'in 4 ana DNA onarım enzimidir (56).

DNA glikosilazları alkilenmiş (genellikle metillenmiş) bazları, oksitlenmiş/indirgenmiş bazları, deamine bazları (örneğin urasil, ksantin) veya baz uyumsuzluklarını tanımaktadır (57). İnsanda en az 12 farklı DNA glikozilaz tanımlanmıştır (54). Bu DNA Glikozilazları modifiye baz ve şeker arasındaki N-glikozidik bağın hidrolize edilmesini katalizlemektedir (53). BER, DNA'da bir abazik (AP) bölge oluşturmak için DNA glikozilaz tarafından hatalı veya hasarlı bazın tanınması ve çıkarılması ile başlatılır. AP bölgeleri de doğrudan hasar ürünü olabilir (57).

BER tamir mekanizmasında iki alt yolak bulunur; kısa yamalı (short-patch) BER (SP-BER) de tek nükleotid değişimi gerçekleşirken, uzun yamalı (long-patch) BER (LP-BER) de ise 2-8 arası nükleotidin kesip çıkarılması gerçekleşmektedir. Her iki yolakta da ilk basamakta tamir, hataya spesifik olan tek fonksiyonlu (urasil-DNA glikozilaz ve N-metilpürin-DNA glikozilaz vs.) veya birden çok fonksiyona sahip olan DNA glikozilazlar (8- oksoguanin DNA glikozilaz, mutY homolog vs) tarafından başlatılabilmektedir (53).

SP-BER ve LP-BER, BER'in ilk iki adımı aynıdır: glikosilaz, hasarlı/değiştirilmiş bazı tanır ve çıkarır. APE1 daha sonra AP bölgesinde şeker-fosfat omurgasını parçalar. Ardından SP-BER, DNA polimeraz β ve ligaz III ile onarımı tamamlar, ancak LP-BER diğer proteinleri içerir. Çoğalan hücre nükleer antijeni, flap endonükleaz 1 ve ligaz I gibi birkaç LP-BER proteini hücre döngüsü ile ilişkili olduğundan ve bölünmeyen hücrelerde aşağı regüle edildiğinden, SP-BER yolunun bölünmeyen hücrelerde baskın onarım mekanizmasını temsil etmesi muhtemeldir (Şekil 2.4) (52).



Şekil 2.4. BER mekanizması (57)

BER, bazın tanınmasıyla başlar ve bunu bir DNA N-glikosilaz aktivitesi ile hasarlı bir pürin veya pirimidinin uzaklaştırılması izler. Bu hasarlı baz eksizyonu, yapısal özellikler ve reaksiyon mekanizmalarında farklı olan iki işlevli veya tek işlevli DNA glikosilaz/AP liyazları ile sağlanır. Glikosilaz reaksiyonundan sonra, 3' parçalanmış şeker terminali, şeker kalıntısının 5' tarafında APE ile insizyon yoluyla DNA'dan çıkarılır; bu da bir baz, 5'-fosfat ve 3'-OH terminalleri ile tek iplikli kırılma (SSB) kaybına neden olur. APE1 ayrıca DNA Polβ gibi 3'-OH ve 5' deoksiriboz fosfataz proteinlerinin aktivitesi ile uzaklaştırılan 3'-OH ve 5'-deoksiriboz fosfat termini oluşturmak için AP bölgesine tek bir 5' çentik yaparak bozulmamış AP bölgelerini ayırır (56). Sonra, lezyon bazının çıkarılması nedeniyle oluşan boşluğu, nükleotid(ler) ile LP-BER yolağında Pol β ve/veya Pol ε veya δ tarafından, SP-BER yolağında DNA polimeraz β aracılığıyla

doldurulmaktadır. Ligasyon işlemi, SP-BER alt yolağında X-ışını onarım çapraz tamamlayıcı grup 1 (XRCC1) ve LigazIII kompleksi ile gerçekleştirilirken, LP-BER alt yolağında Ligaz I ile gerçekleştirilmektedir (53).

2.8. DNA Tamir Genleri ve Polimorfizm

Genomik bütünlüğün korunmasında, DNA tamirinde görevli olan genler önemli bir rol oynamaktadır. DNA onarım sisteminde yaklaşık 130 tamir geni bulunmaktadır ve bu genleri kodlayan proteinler onarım mekanizmalarında görev alırlar (58). Bu genler, DNA lezyonlarının tanınmasını, çıkarılmasını, DNA onarımı sırasında yapılan birleşme hatalarından korunmayı, DNA hasarına toleransı ve DNA replikasyonunu içeren çeşitli yollarda işlev görmektedir (59).

DNA tamir genleri iki gruba ayrılabilir: birincisi DNA onarımında sinyal iletimi ve DNA onarımının düzenlenmesi ile ilgili olan genler, ikincisi ise hatalı eşleşme onarımı, baz ve nükleotid çıkarma onarımı ile ilgili olan genler (58).

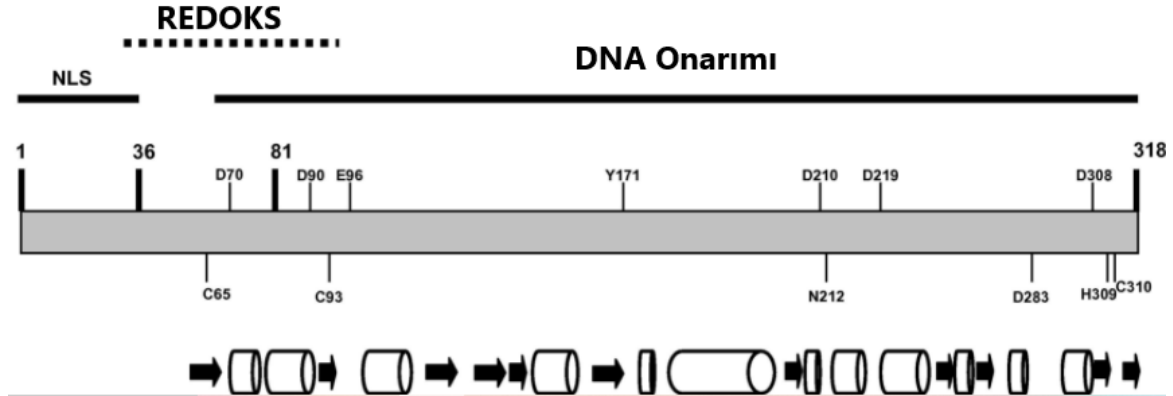
DNA tamir genlerinden birkaçına örnek vericek olursak; *XPA*, *XPB*, *XPC*, *XPB*, *XPD*, *XPE*, *XPF* ve *XPG* genlerinin kod verdiği proteinlerin eksikliği Xeroderma pigmentosum sendromuna neden olur. Bir diğer örnek; *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinde meydana gelen mutasyonlar ile rahim ve meme kanserleri arasında ilişki bulunmuştur (59).

2.8.1. Apürinik / apirimidinik endonükleaz 1 (*APE1*) geni ve polimorfizmi

Apürinik/apirimidinik (AP) endonükleazlar, BER'deki AP bölgelerinin tanınması ve işlenmesinde yer alan kritik enzimlerdir (51). AP endonükleazlar genel olarak iki protein grubunda sınıflandırılabilir: Sınıf I (AP Liyazları), Sınıf II (AP endonükleazları). Sınıf II AP endonükleazları da iki ayrı aileye ayrılır: Ekzonükleaz III ve Endonükleaz IV ailesi. Bakterilerden ve insan hücrelerinden alınan AP endonükleazları üzerinde X-ışını kristalografik çalışmalar yapılmıştır ve bu çalışmalar, aynı ürünlerle sonuçlanan reaksiyonları katalize edebilmelerine rağmen ekzonükleaz III ve endonükleaz IV ailelerinin üyelerinin yapısal olarak ilgisiz olduğunu ortaya koymuştur. Ekzonükleaz III ve onun insan homoloğu *APE1*, sırasıyla bakteri ve insandaki başlıca AP endonükleazlarını temsil etmektedir (60).

İnsan *APE1* geni, ağırlığı 35.5 kDa olup, 319 amino asitlik bir proteini kodlamaktadır (61). Bu gen (yaklaşık 2.6 kb boyutunda) kromozom 14q11.2-12'de lokalizedir. Dört intron ve beş ekzondan oluşur. HAP1, Ref-1 ve APEX1 olarak da

adlandırılan insan apuritik/apirimidinik endonükleazı nukleusa lokalize olan çok işlevli bir proteindir. (Şekil 2.5.) (56, 60).



Şekil 2.5. APE1'in yapısal özellikleri (60)

APE1, hem DNA onarım aktivitesine hem de redoks düzenleyici aktiviteye sahip globuler bir α / β proteinidir. N-terminal alanı, APE1'in redoks aktivitesi için esastır, C-terminali ise DNA onarım aktivitesi için esastır. N-terminal alanı ayrıca nükleer lokalizasyon dizisini de içerir (60). Çeşitli çalışmalar, insan APE1'in, sınıf II AP endonükleaz ailesine ait ve DNA'daki AP bölgelerini onaran başlıca hücrel enzim olan çok işlevli bir DNA onarım enzimi olduğunu ortaya koymuştur. APE1 ayrıca 3'-5'-eksonükleaz aktivitesine, 3'-fosfodiesteraz aktivitesine, 3'-fosfataz aktivitesine ve RNaz H aktivitesine sahiptir. Ayrıca APE1, p53, c-Fos, c-Jun, AP-1, Myb ve NF- κ B dâhil olmak üzere birçok önemli transkripsiyon faktörünün DNA bağlanmasını artıran bir redoks faktörü olarak da işlev görür (61).

Çok işlevli rolleri nedeniyle APE1'in ekspresyondaki değişiklikleri nörodejenerasyon veya diğer nörolojik bozukluklarda, hücre altı lokalizasyon ve diğer aktiviteleriyle bağlantılı olarak çeşitli hastalıklarda rol oynadığı gösterilmiştir. Bu nedenle, APE1 ekspresyonunu ve fonksiyonlarını modüle edebilen çeşitli ajanlar tarafından terapötik müdahale için potansiyel bir hedef olmaktadır (4).

Üç farklı çalışma APE1'den yoksun fare embriyolarının çok erken aşamada öldüğünü göstermiştir (62-64). Bu bulgular, APE1'in erken embriyonik gelişim için gerekli olduğunu göstermektedir (60).

Farelerde yapılan başka bir çalışmada APE1 homozigot delesyonunun embriyonik ölüme yol açtığı belirtilmiştir (60). APE1 +/- heterozigot farelerin ise yaşayabildiği ancak bu farelerin oksidatif strese karşı aşırı duyarlı olduğu belirlenmiştir (62).

APE1'de en erken rapor edilen missens mutasyonlar Leu104Arg, Glu126Asp, Asp148Glu, Asp283Gly, Gly306Ala sporadik amiyotrofik lateral skleroz (ALS) veya ailesel ALS hastalığı dâhil 11 hastanın 6'sında tanımlanmıştır. Bunula birlikte Glu126Asp ve Asp148Glu substitüsyonunun bir polimorfik varyant olduğu belirtilmiştir (9). *APE1*'de toplam 18 polimorfizm rapor edilmiştir, ancak en çok çalışılan polimorfizm T'den G'ye transversiyondur (T1349G, Asp148Glu) (65).

Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada, *APE1* T1349G polimorfizminin önemli ölçüde artmış mide kanseri riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca *APE1* T1349G varyant genotiplerinin, tüm kanser türleri için orta derecede artmış bir risk ile ilişkili olduğu ve bu polimorfizmin kanser gelişimi için düşük penetrasyonlu bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (65).

APE1'in inflamatuvar süreçteki rolüne ilişkin bir çalışmada, interlökin 8 (IL-8) gen transkripsiyonunda temel transkripsiyonel faktörler olan AP1 ve NF-κB'yi indirgeyici olarak aktive eden *APE1* ekspresyonunun, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu sırasında insan mide epitelinde arttığı belirtilmiştir. Bu çalışma, *APE1*'in inflamatuvar sitokinlerin üretiminde de öncü bir rol oynadığını göstermektedir (66).

Japon popülasyonunda sigara içme ve akciğer kanseri riski arasındaki ilişkileri inceleyen bir çalışmaya göre *APE1* Asp148Glu polimorfizmi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (67).

Parkinson hastaları ile yapılan bir çalışmada DNA tamir genlerinden *APE1*, *XRCC1* ve *XRCC3* genetik varyantlarının, SN ve locus coeruleus'taki dopaminerjik nöronların kaybına bağlı olarak PH gelişimi için risk faktörleri olabileceğini ilk kez göstermiştir (68).

Yine başka bir çalışmada *APE1*'in aşırı ekspresyonu, MPP+ ile muamele edilen nöronal PC12 hücrelerinde ROS seviyelerini önemli ölçüde durdurduğu, hücre canlılığını arttırdığı ve apoptozu inhibe ettiği belirtilmiştir. *APE1*'in ekspresyonundaki azalmanın ise, nöronal PC12 hücrelerinin hücre ölümünü ve ROS salınımını arttırdığı belirtilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda *APE1*'in PH modellerinde nöronal sağkalımın kritik bir aracı olabileceğini göstermektedir (7).

Başka bir çalışmada oksidatif stres altında Parkin ve PTEN tarafından indüklenen kinaz 1 (PINK1) aktivitelerinin modülasyonunun SH-SY5Y, HEK293 ve A549 hücrelerinde endojen APE1'in azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (69).

Çalışmamıza benzer konularda yapılan yukarıdaki çalışmaların sonuçlarına bakıldığında, APE1 proteinindeki veya aktivitesindeki bir eksikliğin PH'nın patogenezinde yer aldığı fikrini desteklerken, *APE1* ekspresyonunun veya aktivitesinin artırılmasının ise nöronal canlılığı önemli ölçüde arttırdığı yorumu çıkarılabilir (4).



3. MATERYAL VE METOT

PH ve kontrol gruplarında *APE1* (Asp148Glu) polimorfizmini araştırmak için çalışmamızda kullandığımız sarf malzemeler, araç-gereçler ve uyguladığımız yöntemler aşağıda belirtilmiştir.

3.1. Örneklerin Seçimi

İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Nöroloji Anabilim Dalı'nda teşhis ve tedavileri yapılmakta olan 20-85 yaş arasında, aile öyküsü olan veya olmayan İdiopatik Parkinson Hastalığı (İPH) tanısı olan 155 hasta gönüllülük esasına dayanarak çalışmaya dâhil edilmiştir. İPH tanısı United Kingdom Brain Bank Criteria (UKBBC) ya göre konularak, Parkinson Plus Sendrom ve Sekonder Parkinsonizm tanılı hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Hasta grubu 25-85 yaş aralığındadır.

Hasta grubundaki bireylere, gönüllü bilgilendirme formu okutulup imzaları alındıktan sonra çalışmaya dâhil edilmişlerdir.

İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Nöroloji Anabilim Dalı'nda İPH tanısı almamış sağlıklı 73 birey gönüllülük esasına dayanarak çalışmaya dâhil edilmiştir.

Kontrol grubundaki bireylere, gönüllü bilgilendirme formu okutulup imzaları alındıktan sonra çalışmaya dâhil edilmişlerdir.

Bu alışma 08.01.2020 tarihli ve 2019/214 sayılı kararı ile Malatya Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. İlgili Etik kurul onayı ekler bölümündedir. Ayrıca çalışmamızın finansal desteği TYL-2020-2066 İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından karşılanmıştır.

3.2. Aletler ve Cihazlar

1. Derin dondurucu (-20°C) (Regal)
2. Isı bloğu (Wealtec)
3. Otomatik pipet (20, 100, 200, 1000 µl)
4. Mikro santrifüj (Hettich Mikro 20)
5. Real-time PZR cihazı (Roche, LightCycler 2.0)
6. Vorteks (Nüve, NM 110)

7. Eppendorf tüpleri

3.3. Sarf Malzemeler

1. LightSNiP *APEI* (Asp148Glu) (TIB MOLBIOL, Berlin, Germany)
2. DNA izolasyon kiti (PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, USA))
3. LCTM FastStart DNA Master HybProbe kit (Roche Diagnostics Mannheim, Germany)

3.4. Yöntemler

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubundaki tüm bireylerden EDTA'lı tüplere 2 ml periferik kan alınmıştır. Alınan kanlar ile aşağıdaki çalışmalar yapılmıştır.

3.4.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

DNA izolasyonuna başlamadan önce ısı bloğu, 56°C'ye getirilir. İşlemler şu sıra ile yapılır:

1. Ekstraksiyon yapacağımız numune sayısına 1.5 ml'lik eppendorf tüp hazırlanarak üzerleri sırasıyla numaralandırılır. Daha sonra kullanılmak üzere Spin Columns ile Collection tüpleri de numaralandırılır.
2. EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri de numaralandırılarak her birinden kendi numarası yazılan eppendorf tüplerine 200 µl kan altüst edilerek alınır.
3. Aynı eppendorf tüplerine 20 µl proteinaz K ve 20 µl RNase A ilave edilir.
4. Vorteks yapılarak 2 dakika oda ısısında bekletilir.
5. Eppendorf tüplerin kapakları açılarak 200 µl Lysis/Binding Buffer ilave edilerek vortekslenir.
6. 56°C ısı bloğunda 10 dakika bekletilir.
7. Sonra 200 µl %100'lük etil alkol eklenerek vortekslenir.
8. Eppendorf tüplerindeki tüm miktar daha önceden numaralandırılan Spin Columns ile Collection tüplerine eklenir. Oda ısısında 1 dakika bekletilir.
9. 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek sonrasında kolonun altındaki collection tüpü atılıp kolon yeni collection tüpüne takılır.

10. Kolon tüpünün kapağı açılarak 500 µl wash buffer 1 ilave edilir.
11. 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek sonrasında kolonun altındaki collection tüpü atılarak yeni collection tüpü takılır.
12. Kolon tüpünün kapağı açılarak 500 µl wash buffer 2 eklenir.
13. 13000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilir.
14. Santrifüj sonrasında kolonun altındaki collection tüpü atılarak kolon 1.5 ml'lik steril eppendorf tüplerine yerleştirilir.
15. Elution buffer 150 µl tüplere ilave edilir. 1 dakika oda ısısında bekletilir.
16. 13000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilerek sonrasında eppendorf içindeki kolon atılır. Eppendorf tüpün kapağı kapatılır ve izole edilen DNA daha sonra kullanılmak üzere -15/-25°C'de saklanır.

3.4.2. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), bir organizmaya ait DNA içerisinde yer alan, dizisi bilinen özgün bir bölgeyi enzimatik olarak çoğaltılmasını (amplifikasyon) sağlayan *in vitro* DNA sentez yöntemidir. PZR'ın, 3 ana basamağı bulunmaktadır: Denatürasyon, bağlanma (annealing) ve uzama (elongation). Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunun temel mekanizması, hedeflenen DNA molekülünün amplifikasyonu ile birlikte artış gösteren floresan sinyali ölçülerek sonuçların kısa süre içinde elde edilmesidir. Çalışmamızda LightCycler 2.0 sistemi kullanılmıştır.

Çift sarmal DNA'nın kendine özgü melting temperature (erime sıcaklığı) vardır. Erime sıcaklığı (T_m) çift sarmallı DNA'nın %50'sinin tek sarmal haline gelebilmesi için gerekli sıcaklıktır. Erime sıcaklığı G-C baz içeriğine, DNA dizi uzunluğuna ve baz sırasına bağlı olarak değişebilmektedir. Bu yöntem de DNA'nın bu özelliğinden yararlanarak genotipleri "erime eğrisi analizi" ile belirlemektedir. Erime eğrisi analizinde amaç hedef DNA'nın erime sıcaklığını belirleyerek oluşan ürünleri erime sıcaklıklarına göre analiz edebilmektir. PZR'de bunun için, DNA amplifikasyonun tamamlanmasının ardından, sıcaklık yavaş yavaş yükseltilerek her örnek için erime eğrisi oluşturulmaktadır. Sıcaklığın yükselmesi sırasında DNA'daki normal dizi ile polimorfizm içeren dizinin ayırımı bu şekilde gerçekleşmektedir. Floresan/sıcaklık negatif türevinin sıcaklığa göre çizilmesiyle erime eğrileri, erime piklerine dönüştürülmektedir.

3.4.3. *APEI* Polimorfizmi Belirlenmesi

APEI polimorfizminin belirlenebilmesi için floresan işaretli prob ve bir çift primer kullanılarak ilgili gen bölgesinin çoğaltılması amaçlandı. Bu aşama LightCycler 2.0 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) cihazında, “LCTM LightCycler FastStart DNA Master HybProbe Kit” ve LightSNiP assay (TIB-MolBiol, Berlin, Germany) kullanılarak erime eğrisi analizine göre yapıldı. Kullanılacak reaksiyon karışımı ise bir hasta için son hacim 20 µl olacak şekilde hesaplandı. Bunun için;

- 2 µl LC™ FastStart DNA Master mix,
- 1.6 µl MgCl₂ (25 mM)
- 1 µl Reagent mix,
- 10.4 µl H₂O

Hasta sayısına uygun olarak hazırlandı. Hazırlanan mix 15 µl cam kapiler tüplere dağıtıldı. Sonra çalışılacak genomik DNA’dan sırasıyla 5 µl alınarak kapiler tüplere eklendi. Kapiler tüplerin kapakları kapatılarak cihaza yerleştirildi. Cihazın PZR programı Tablo 3.1’de belirtildiği gibi ayarlandı.

Tablo 3.1. LightCycler 2.0 Termal Döngü Programı

Program	Denatürasyon	Cycling				Erime		Soğutma
Analiz modu	None	Ölçme (Quantification)				Erime eğrisi		None
Döngü sayısı	1	45				1	1	
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1
Hedef sıcaklık(°C)	95	95	60	72	95	40	85	40
İnkubasyon süresi	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:20	00:00:20	00:00:00	00:00:30
Hh:mm:ss								
Sıcaklık	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	0.2	20.0
Geçiş Oranı (°C/s)								
Okuma modu	None	None	Single	None	None	None	Continue	None

Çalışma sonunda *APEI* mutasyonu için bireylerin genotiplendirilmesi, erime eğrisi analizi sırasında oluşan piklerin erime derecelerine göre homozigot normal, homozigot mutant ve heterozigot genotipler ayırt edildi. Hasta ve kontrol gruplarındaki tüm bireylerin genotipleri bu şekilde belirlenmiştir. Heterozigot genotipler iki farklı erime

derecesinde iki pik oluştururken, homozigot mutant ve homozigot normal genotipler farklı erime derecesinde tek pik oluşturmuştur.

3.5. İstatistiksel Analiz

APEI Asp148Glu gen polimorfizmi için hasta ve kontrol gruplarında genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesine uyduğu belirlenmiştir.

Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla tüm veriler “IBM SPSS Statistics for windows, version 22.0” paket programına girilmiştir. *APEI* Asp148Glu polimorfizminde grupların genotip ve allel frekansları bakımından karşılaştırılması için Pearson ki-kare analizi yapılmıştır. *APEI* Asp148Glu polimorfizmi ve PH riski arasındaki ilişkiler lojistik regresyon analizi aracılığıyla odds oranları (OR'ler) ile bunların %95 güven aralıkları (CI'ler) belirlenerek kontrol edilmiştir. PH'nın çeşitli klinik özellikleri bakımından *APEI* Asp148Glu polimorfizminin genotipleri arasındaki farklılıklar da yine Pearson ki-kare analizi ile değerlendirilmiştir. $P < 0.05$ istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Nöroloji Anabilim Dalı'nda teşhis ve tedavileri yapılmakta olan aile öyküsü olan veya olmayan İdiopatik Parkinson Hastalığı tanısı almış hastalar ve sağlıklı kontrol grubu ile yapılmıştır. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireyler gönüllülük esasına dayanarak çalışmaya dahil edilmiştir. İdiopatik Parkinson Hastalığı tanısı United Kingdom Brain Bank Criteria (UKBBC) ya göre konularak, Parkinson Plus Sendrom ve Sekonder Parkinsonizm tanılı hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışma hasta ve sağlıklı kontrol gruplarını oluşturan bireylerden alınan periferik kan örnekleri kullanılarak yapılmıştır.

Hasta grubuna 155 hasta dahil edilmiştir. Hastalar 25-85 yaş aralığında bulunmaktadır. Yaş ortalaması 63.15 ± 10.512 olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda 93 erkek, 61 kadın bulunmaktadır.

Kontrol grubunda 73 sağlıklı birey bulunmaktadır. Kontrol grubu 42-73 yaş aralığında ve yaş ortalaması 53.36 ± 7.441 olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubunda 42 erkek, 31 kadın bulunmaktadır.

Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı farkın olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.1).

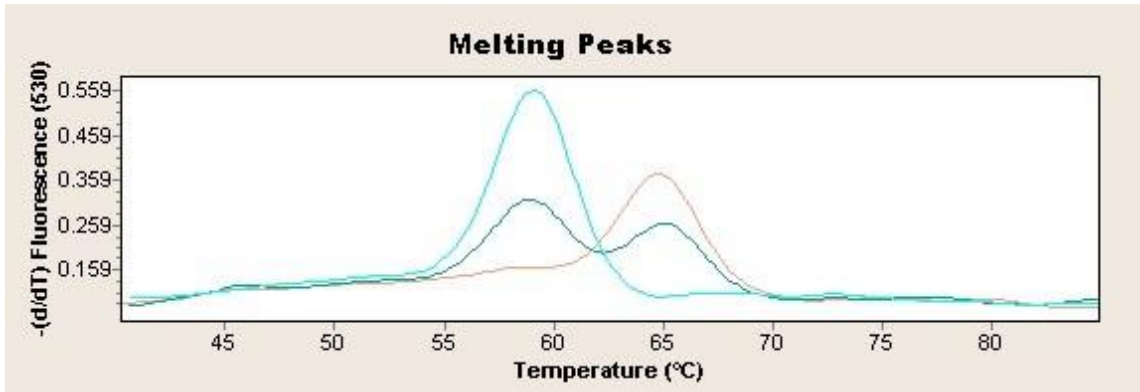
Tablo 4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarında Cinsiyet Dağılımı

CİNSİYET	GRUPLAR		X ²	P
	HASTA N (%)	KONTROL N (%)		
ERKEK	93 (60.4)	42 (57.5)		
KADIN	61 (39.6)	31 (42.5)	0.168	0.682
TOPLAM	154 (100)	73 (100)		

4.1. APEI Asp148Glu Polimorfizmi Bakımından Gruplarda Genotip ve Allel Frekansının Belirlenmesi

APEI Asp148Glu polimorfizminde 2197. nükleotid olan Timin'nin (T), Guanin (G) ile yer değiştirmesi sonucu polipeptid dizisindeki 148. aminoasit olan aspartik asitin (Asp) glutamik asite (Glu) değişmesine sebep olmaktadır.

Gerçek zamanlı PZR sonucunda, elde edilen veriler erime eğrilerinin analizinde oluşan piklerin erime derecelerine göre homozigot normal (Asp/Asp), heterozigot (Asp/Glu) ve homozigot mutant genotipler (Glu/Glu) olarak belirlenmiştir. *APE1* Asp148Glu polimorfizmi açısından değerlendirilen hasta ve kontrol gruplarında bulunan tüm bireylerin genotipleri Şekil 4.1’de tanımlandığı gibi belirlenmiştir. Buna göre erime eğrisinde ortalama 58.5°C’de oluşan pik Asp/Asp genotipi, ortalama 65°C’de oluşan pik Glu/Glu ve hem 58.5°C hem de 65°C’de oluşan iki pik de Asp/Glu genotip olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.1) (LightSNiP assay TIB-MolBiol, Berlin, Germany).



Şekil 4. 1. *APE1* Asp148Glu erime eğrisi analizi. Erime noktası (Tm), Asp alleli için 58.5°C ve Glu alleli için 65 °C dir. Grafikte mavi renkteki erime eğrisi homozigot normal (Asp/Asp); mor renkteki, homozigot mutant (Glu/Glu) ve yeşil renkteki ise heterozigot (Asp/Glu) genotipli bireyi göstermektedir.

Elde edilen verilere göre her iki grupta *APE1* Asp148Glu polimorfizmi bakımından allel ve genotip frekanslarının dağılımları hesaplanarak Tablo 4.2’de verilmiştir. *APE1* Asp148Glu polimorfizminde grupların genotip ve allel frekansları bakımından karşılaştırılması için Pearson ki-kare analizi yapılmıştır. *APE1* Asp148Glu polimorfizmi ve PH riski arasındaki ilişkiler lojistik regresyon analizi aracılığıyla odds oranları (OR'ler) ile bunların %95 güven aralıkları (CI'ler) belirlenerek kontrol edilmiştir.

Sonuçlarımıza göre kontrol grubunda Asp/Asp genotipi 29 (%39.73) bireyde, Asp/Glu genotipi 32 (%43.83) bireyde ve Glu/Glu genotipi ise 12 (%16.44) bireyde saptanmıştır. Hasta grubunda ise Asp/Asp genotipi 64 (%41.29) bireyde, Asp/Glu genotipi 78 (%50.32) bireyde ve Glu/Glu genotipi ise 13 (%8.39) bireyde saptanmıştır. Elde ettiğimiz veriler genotip frekansları açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur ($P < 0.05$). Glu mutant allelini, homozigot veya heterozigot (Glu/Glu ve Asp/Glu) olarak taşıyan bireylerin sayısı kontrol grubunda 44 (%60.27) ve hasta grubunda ise 91 (%58.71) olarak hesaplanmıştır.

İstatistiksel olarak sonuçlar değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur ($P<0.05$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Hasta ve kontrol gruplarında *APE1* Asp148Glu polimorfizmi bakımından genotip ve allel frekanslarının dağılımı

GENOTİP	KONTROL N (%)	HASTA N (%)	OR (95% CI)	P
Asp/Asp	29 (39.73)	64 (41.29)	Referans	
Asp/Glu	32 (43.83)	78 (50.32)	1.104 (0.605-2.016)	0.746
Glu/Glu	12 (16.44)	13 (8.39)	0.491 (0.200-1.206)	0.121
Asp/Glu+Glu/Glu	44 (60.27)	91 (58.71)	0.937 (0.531-1.653)	0.823
Pearson ki-kare analizi				0.183
Alleller				
Asp	90 (61.64)	206 (66.45)	Referans	
Glu	56 (38.36)	104 (33.55)	0.811 (0.539-1.221)	0.811
Pearson ki-kare analizi				0.316

Hasta ve kontrol gruplarında elde ettiğimiz bulguların allel dağılımları değerlendirilerek sonuçları Tablo 4.2'de verilmiştir. Sonuçlarımıza göre kontrol grubunda Asp allel sayısı 90, allel frekansı %61.64 olarak hesaplanmıştır. Glu allel sayısı 56, allel frekansı %36.36 olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda ise Asp allel sayısı 206, allel frekansı %66.45 olarak hesaplanmıştır. Glu allel sayısı ise 104, allel frekansı %33.55 olarak hesaplanmıştır. Elde ettiğimiz veriler allel sıklığı bakımından istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur ($P>0.05$).

4.2. Parkinson Hastalığının Başlama Yaşı ve *APE1* Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Hasta grubunda farklı genotipler arasında hastalığın başlama yaşı bakımından karşılaştırma yapılmıştır. Asp/Asp genotipli bireylerde hastalığın başlama yaşı ortalama 57.23 ± 12.07 , Asp/Glu genotipli bireylerde 57.51 ± 10.60 ve Glu/Glu genotipli bireylerde ise 54.15 ± 9.95 olarak bulunmuştur. (Tablo 4.3). Hasta grubunda bulunan genotiplere göre gruplar oluşturulduğunda; ortalama hastalık başlama yaşı bakımından genotipler arasında anlamlı bir farkın olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$).

Tablo 4.3. *APEI* Asp148Glu'nin farklı genotiplerinde PH'nın başlama yaşı

GENOTİP	N (%)	Ortalama Yaş ±SD	P
Asp/Asp	64 (41.6)	57.23 ± 12.07	
Asp/Glu	77 (50.0)	57.51 ± 10.60	
Glu/Glu	13 ((8.4)	54.15 ± 9.95	0.604
TOPLAM	154 (100)		

SD: Standart sapma

4.3. Parkinson Hastalarında Diskinezi Tipleri ve *APEI* Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Diskinezi PH'da levodopa tedavisi sonrası görülebilen sorunlardandır. Hasta grubunda diskinezinin iki farklı tipi olan peakdoz ve enddoz gözlenmiştir. Böylece diskinezi bakımından iki grup oluşturulmuştur. Bu gruplarda *APEI* Asp148Glu polimorfizmine göre genotipler belirlenmiştir. Buna göre peakdoz diskinezi görülen hasta sayısı 38 (%24.7), enddoz diskinezi görülen hasta sayısı 116 (%75.3) olarak belirlenmiştir. Diskinezi tipine göre oluşturulan gruplarda *APEI* Asp148Glu polimorfizmindeki genotiplerin dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. PH'nın farklı diskinezi tiplerinde *APEI* Asp148Glu genotiplerinin dağılımı

GENOTİP	DİSKİNEZİ TİPLERİ		P
	PEAKDOZ N (%)	ENDDOZ N (%)	
Asp/Asp	15 (39.47)	49 (42.24)	
Asp/Glu	17 (44.74)	60 (51.72)	
Glu/Glu	6 (15.79)	7 (6.03)	0.169
TOPLAM	38 (100)	116 (100)	

4.4. Parkinson Hastalarının Klinik Tipleri ve *APEI* Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Hastaların ilk görülen klinik bulgularına göre; tremor, bradikinezi ve ayırt edilemeyen tip olarak 3 kısma ayrılmaktadır. Böylece PH'nın klinik tipleri bakımından üç grup oluşturulmuştur. Buna göre ilk bulgusu tremor olan hasta sayısı 91 (%59.1), ilk bulgusu bradikinezi olan hasta sayısı 59 (%38.3) ve ilk klinik bulgusu tremor ve bradikinezi olmayan (ayırt edilemeyen tip) hasta sayısı ise 4 (%2.6) olarak bulunmuştur. Hastalığın klinik tiplerine göre oluşturulan gruplarda *APEI* Asp148Glu

polimorfizmindeki genotiplerin dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. PH'nın farklı klinik tiplerinde *APE1* Asp148Glu genotiplerinin dağılımı

KLİNİK TİPLER				
GENOTİP	Tremor Dominant N (%)	Bradikinezi Dominant N (%)	Ayırt Edilemeyen N (%)	P
Asp/Asp	35 (38.5)	27 (45.76)	2 (50.0)	
Asp/Glu	49 (53.8)	27 (45.76)	1 (25.0)	
Glu/Glu	7 (7.7)	5 (8.47)	1 (25.0)	0.580
TOPLAM	91 (100)	59 (100)	4 (100)	

4.5. Parkinson Hastalarının Klinik Evreleri ve *APE1* Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

PH'da hastalığın şiddetini belirlemek için klinik evreleme yapılmaktadır. Bunun için hastalar H&Y Evrelemesi'ne göre değerlendirilir. H&Y Evrelemesi 5 evrede değerlendirilmektedir. Böylece Parkinson hastalarının klinik evreleri bakımından 5 grup oluşturulmuştur. Buna göre 37 (%24.2) hastanın Evre 1'de, 61 (%39.9) hastanın Evre 2'de olduğu belirlenmiştir. 36 (%23.5) hasta Evre 3'te, 13 (%8.5) hasta Evre 4'te ve 6 (%3.9) hastanın da Evre 5 te olduğu belirlenmiştir. Hastalığın klinik evrelerine göre oluşturulan gruplarda *APE1* Asp148Glu polimorfizmindeki genotiplerin dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. PH'nın farklı evrelerinde bulunan olgularda *APE1* Asp148Glu genotiplerinin dağılımı

HOEHN&YAHR EVRELERİ						
GENOTİP	1 N (%)	2 N (%)	3 N (%)	4 N (%)	5 N (%)	P
Asp/Asp	15 (40.5)	32 (52.5)	13 (36.1)	2 (15.4)	2 (33.3)	
Asp/Glu	20 (54.1)	25 (41.0)	18 (50.0)	10 (76.9)	3 (50.0)	
Glu/Glu	2 (5.4)	4 (6.5)	5 (13.9)	1 (7.7)	1 (16.7)	0.292
TOPLAM	37 (100)	61 (100)	36 (100)	13 (100)	6 (100)	

4.6. Parkinson Hastalarının Nonmotor Bulguları ve *APE1* Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Hastalarda nonmotor bulguların olup olmadığı değerlendirildi. Bazı hastalarda nonmotor bulgular görülürken bazı hastalarda nonmotor bulgular görülmemiştir. Buna göre 98 (%73.1) hastada nonmotor bulgunun olduğu ve 36 (%26.9) hastada ise nonmotor bulgunun olmadığı tespit edilmiştir. Hastalarda nonmotor bulguların durumuna göre oluşturulan gruplarda *APE1* Asp148Glu polimorfizmindeki genotiplerin dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. PH'nda nonmotor bulgularının durumuna göre oluşturulan gruplarda *APE1* Asp148Glu genotiplerinin dağılımı

GENOTİP	NONMOTOR BULGU		P
	VAR N (%)	YOK N (%)	
Asp/Asp	40 (40.8)	17 (42.3)	0.801
Asp/Glu	49 (50.0)	16 (44.4)	
Glu/Glu	9 (9.2)	3 (8.3)	
TOPLAM	98 (100)	36 (100)	

4.7. Parkinson Hastalarının Demans Bulguları ve *APE1* Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Hastaların demans bulguları olup olmadığı değerlendirildi. Bazı hastalarda demans bulguları görülürken bazı hastalarda demans bulguları görülmemiştir. Buna göre 35 (%23.6) hastada demans bulgusunun olduğu ve 113 (%76.4) hastada ise demans bulgusunun olmadığı tespit edilmiştir. Hastalarda demans bulgularının durumuna göre oluşturulan gruplarda *APE1* Asp148Glu polimorfizmindeki genotiplerin dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. PH'nda demans bulgularının durumuna göre oluşturulan gruplarda *APE1* Asp148Glu genotiplerin dağılımı

GENOTİP	DEMANS BULGULARI		P
	VAR N (%)	YOK N (%)	
Asp/Asp	16 (45.7)	44 (38.9)	0.659
Asp/Glu	17 (48.6)	58 (51.4)	
Glu/Glu	2 (5.7)	11 (9.7)	
TOPLAM	35 (100)	113 (100)	

4.8. Parkinson Hastalarının Aile Öyküsü ve *APE1* Asp148Glu Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Hastaların ailelerinde PH öyküsünün olup olmadığı değerlendirildi. Bazı hastalarda aile öyküsü bulunurken bazı hastalarda aile öyküsü bulunmamıştır. Buna göre 15 (%17.4) hastanın ailesinde PH öyküsünün olduğu ve 71 (%82.6) hastanın ailesinde PH öyküsünün olmadığı tespit edilmiştir. Hastalarda aile öyküsü bulgularının durumuna göre oluşturulan gruplarda *APE1* Asp148Glu polimorfizmindeki genotiplerin dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. PH'nın aile öyküsü bulgularının durumuna göre oluşturulan gruplarda *APE1* Asp148Glu genotiplerin dağılımı

GENOTİP	AİLE ÖYKÜSÜ		P
	VAR N (%)	YOK N (%)	
Asp/Asp	10 (66.7)	25 (35.2)	0.063
Asp/Glu	5 (33.3)	40 (56.3)	
Glu/Glu	0 (0)	6 (8.5)	
TOPLAM	15 (100)	71 (100)	

5. TARTIŞMA

Nörodejeneratif hastalıklardan etkilenen bireylerin beyinde DNA hasarının varlığı belirlendikten sonra, DNA tamir sistemlerinin yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklarda olası rolünün anlaşılmasına artan bir ilgi vardır (68). Bu bulgular ışığında çalışmamızda DNA onarımında görevli *APE1* Asp148Glu gen polimorfizminin Parkinson Hastalığı riskini arttırıp arttırmadığını araştırmayı amaçladık.

Parkinson hastalığı, 65 yaş ve üzeri nüfusun %2-3'ünde görülen en yaygın ikinci nörodejeneratif hastalıktır (1). Disfonksiyonel mitokondri ve oksidatif stres PH patogenezinin ana bileşenleridir. DNA onarımının etkinliği, nörodejeneratif hastalıkları etkileyen kritik ve ayırt edici bir faktördür. BER, ökaryotik hücrelerde okside olmuş DNA bazları, nükleer ve mitokondriyal DNA'daki tek iplikli kopmalar için birincil onarım mekanizmasıdır. Bu nedenle, BER proteinlerinin terapötik müdahale için iyi adaylar olduğu öne sürülmüştür. Ayrıca, BER'deki bozukluklar çeşitli sendromlar ve yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıklarla bağlantılıdır (4). *APE1* baz kesip çıkarma tamirindeki anahtar genlerdendir (5). *APE1*'den sentezlenen enzim redoks efektör faktörü olarak da bilinen apuridik/apirimidinik endonükleaz 1(APEX1)'dir. Bu enzim oksidatif DNA hasarının onarımında rol oynar; hücre sağ kalımı, anjiyogenez ve apoptoz yolu için gen ekspresyonunu kontrol eden transkripsiyon faktörlerinin indirgeme-yükseltgenme reaksiyonlarını ve memeli hücrelerinde önemli biyolojik fonksiyonlardan sorumlu olan redoks-bağımsız fiziksel protein-protein etkileşiminin koordine ve kontrolünü sağlar (7).

Yapılan *in vitro* bir çalışmada *APE1*'in aşırı ekspresyonunun, MPP⁺ ile muamele edilen nöronal PC12 hücrelerinde ROS seviyelerini önemli ölçüde durdurduğu, hücre canlılığını arttırdığı ve apoptozu inhibe ettiği belirtilmiştir. *APE1*'in ekspresyonundaki azalmanın ise, nöronal PC12 hücrelerinin hücre ölümünü ve ROS salınımını arttırdığı belirtilmiştir. Bu sonuçlar; *APE1*'in PH modellerinde nöronal sağ kalımın kritik bir aracı olabileceğini göstermektedir (7).

Arsenik maruziyeti ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada, 2003 yılında Bangladeş'te 97 kadından oluşan bir kohortta idrarda 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, *APE1* Asp148Glu varyant genotipinin bir oksidatif DNA hasarı ve oksidatif stres belirteci olan 8-oxo-dG'nin onarımını azalttığı rapor edilmiştir (70).

Başka bir çalışmada oksidatif stres altında Parkin ve PTEN tarafından indüklenen kinaz 1 (PINK1) aktivitelerinin modülasyonunun SH-SY5Y, HEK293 ve A549 hücrelerinde endojen APE1'in azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (69).

Diğer çalışmaya 619 PH ve 854 sağlıklı birey dahil edilmiş ve BER mekanizmasında görevli 2 gende (*APEX1* ve *OGGI*) fonksiyonel SNP'lerin ve parakuat dahil mitokondriyal disfonksiyon veya oksidatif strese bağlı pestisit maruziyetinin PH riskine katkıları araştırılmıştır. Bu çalışmada *APEX1* rs1130409 (Asp148Glu) ve *OGGI* rs1052133 polimorfizmleri analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda tek başına veya kombinasyon halinde çalışılan SNP'lerin PH riskini etkilemediği ancak mitokondriyal inhibe edici, oksidatif stres indükleyici pestisitler ve parakuatın bu SNP'ler ile birlikte değerlendirildiğinde PH ile ilişkili olduğu bulunmuştur (71).

Gencer ve arkadaşlarının PH ile yaptığı bir çalışmada DNA tamir genlerinden *APE1*, *XRCC1* ve *XRCC3* genetik varyantlarının, SN ve locus coeruleus'taki dopaminerjik nöronların kaybına bağlı olarak PH gelişimi için risk faktörleri olabileceğini ilk kez göstermiştir (68). Bu çalışmanın verileri bizim yaptığımız çalışmanın verileri ile kıyaslandığında:

Bu çalışmada *APE1 Asp148Glu* polimorfizmi bakımından elde ettiğimiz sonuçlara göre kontrol grubunda Asp normal allelin frekansı %61.64 olarak bulunmuştur. Glu mutant allelin frekansı ise %38.36 olarak bulunmuştur. Hasta grubunda ise Asp ve Glu allel frekansları sırasıyla %66.45 ve %33.55 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.2). Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir farkın olmadığı saptanmıştır ($p=0.316$). Gencer ve arkadaşlarının PH'larında *APE1 Asp148Glu* polimorfizmi çalışmasında kontrol grubunda Asp normal allelin frekansı %72.2 olarak bulunurken Glu mutant allelin frekansını ise %27.7 olarak bulmuşlardır. Hasta grubunda Asp ve Glu allel frekanslarını sırası ile %68.16 ve %30.83 olarak bulmuşlardır. Grupları istatistiksel olarak değerlendirdiklerinde aralarındaki farkın anlamlı olduğu saptanmıştır ($p=0.028$) (68). Bizim çalışmamızla kıyaslandığında farklı sonuçlar elde edilme nedenleri; hasta ve kontrol grubuna dahil edilen birey sayısı olduğu düşünülebilir. Bizim çalışmamızda hasta grubunda 155 ve kontrol grubu 73 birey bulunmaktadır. Gencer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise hasta grubunda 60, kontrol grubunda ise 108 birey vardır (68).

Çalışmamızda hasta grubunun yaş ortalaması 63.15 ± 10.512 ve kontrol grubunun yaş ortalaması $53.36 \pm 7,441$ olarak bulunmuştur. Cinsiyet bakımından hasta grubunda 93 erkek, 61 kadın, kontrol grubunda ise 42 erkek, 31 kadın dâhil edilmiştir. Cinsiyete göre hasta ve kontrol grubuna bakıldığında, hasta ve kontrol grubu ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olmadığı görülmektedir ($p>0.05$) (Tablo 4.1). Tabloya bakıldığında PH görülme sıklığı erkeklerde daha fazla bulunmuştur. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, İspanya'daki üç farklı bölgede 65 yaş üstü olan 5278 kişiyle yapılan bir çalışmada İdiyopatik Parkinson hastalarının erkek ve kadın sayısının oranı yaklaşık 3/2 olarak bulunmuştur (72). Kaliforniya'da yeni tanı almış 588 Parkinson hastasında yapılan diğer bir çalışmada aynı yaş grubunda olan IPH için erkeklerde kadınlara göre 1.5-2.5 kat artmış risk gösterilmiştir (73). Tüm bu veriler genel literatür taraması ile uyumlu bulunmaktadır. Verilerimiz IPH'nın görülme sıklığının bulunduğu popülasyonda ileri yaşlarda belirgin arttığını ve dünyadaki dağılıma benzer olduğu görülmektedir (72, 74-76).

Çalışmamızda hasta grubunda farklı genotipler arasında hastalığın başlama yaşı bakımından farklılıklar olup olmadığı araştırılmıştır. Buna göre; Asp/Asp genotipli grupta hastalık başlama yaşı ortalama 57.23 ± 12.07 , Asp/Glu genotipli grupta 57.51 ± 10.6 ve Glu/Glu genotipli grupta ise 54.15 ± 9.95 olarak bulunmuştur. (Tablo 4.3). Verilerimiz gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını göstermektedir ($p>0.05$). 624 Parkinson hastasının dâhil edildiği bir çalışmada hastalık başlama yaşı ortalama 64.5 ± 9.5 olarak tespit edilmiştir (77). 344 Parkinson hastasının takip edildiği bir çalışmada hastalık başlama yaşı 50.8 ± 11.9 olarak belirlenmiştir (78).

PH'nda görülen peakdoz ve enddoz diskinezi tiplerine göre oluşturulan gruplarda *APEI* Asp148Glu gen polimorfizmi bakımından genotiplerin dağılımı araştırıldığında anlamlı bir farklılığın olmadığı anlaşılmıştır (Tablo 4.4). Sweet ve McDowell, en az 5 yıldır levodopa alan hastaların %47'sinde motor dalgalanmalar ve %49'unda diskinezi olduğunu bulmuşlardır (79). Barbeau'nun yaptığı bir çalışmada, 6 yıllık tedaviden sonra çalışma grubunun %55'inde motor dalgalanmalar ve %55'inde diskinezi olduğunu bulmuştur (80). 2004 yılında Amerika'da 301 hasta ile yapılan başka bir çalışmada levodopa dozunun artışına bağlı olarak wearing-off fenomeni görülme sıklığının artmış olduğu gösterilmiştir (81). Levodopa tedavisi alan idiyopatik Parkinson hastalığı olan 54 hastanın incelendiği başka bir çalışmada, hastalardan 33'ü peakdoz diskinezi sergilemiştir (82). Özetle, çoğu çalışma 5 yıllık levodopa tedavisinden sonra motor komplikasyonların

yaygın olduğunu göstermektedir. Hastalığın şiddeti, parkinsonizm başlangıç yaşı ve levodopa dozunun bu problemlerin başlama zamanını etkileyebilir.

Klinik gözleme dayanarak PH'nın en yaygın ampirik gruplandırmaları şöyledir: tremor dominant, non tremor dominant (postural instabilite yürüyüş bozukluğu veya akinetik-rijit) ve erken ile geç başlangıçtır (25). Tremor dominant PH'ları iyi bir prognoz sergiler ve yavaş ilerler. Non tremor dominant PH'ları ise hızlı ilerler ve kötü prognoza sahiptir. Ayrıca, non tremor dominant PH'larının tremor dominant PH'larına göre daha düşük bir yaşam kalitesi olduğu bildirilmiştir (26). İPH tanılı 100 hastanın katıldığı bir çalışmada, hastalık sürecinde hastaların %85 inde tremor geliştiği görülmüştür (83). Yine 2 farklı çalışmanın sonuçlarına göre; PH'nın erken evrelerinde hastaların %70'inde tremor olduğu belirtilmiştir (84, 85). Çalışmamızda PH'da görülen tremor dominant klinik tip, bradikinezi dominant klinik tip ile ayırt edilemeyen klinik tipleri görülen hastalar ile oluşturulan gruplarda *APE1* Asp148Glu gen polimorfizminin farklı genotipleri bakımından anlamlı bir fark olmadığı anlaşılmıştır (Tablo 4.5).

İPH'da görülen non motor bulgular, motor bulgular görülmeden önce ortaya çıkabilir. Non motor bulgular her hastada farklı şiddette bir klinik yaratabilmektedir. 2011 yılında Türkiye'de 96 PH'nın katıldığı bir çalışmada 63 (%64.9) hastada ağrı olduğu bildirilmiştir (86). 2003 yılında yapılan tanımlayıcı kesitsel bir çalışmada İPH olan 123 hastadan 77 (%62.6)'sinde ağrı olduğu bildirilmiştir. (87). Non motor bulgulardan REM uyku davranış bozukluğu hastalık sürecinde ya da pre-motor dönemde ortaya çıkabilmektedir. 195 PH'sında REM uyku davranış bozukluğunun klinik özelliklerini ve sıklığını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada; REM uyku davranış bozukluğunun başlangıcı hastaların %27'sinde PH'dan önce görülmüş; REM uyku davranış bozukluğu grubunun %69'u uyku sırasında kendilerini veya bakıcılarını yaralamıştır (88). 33 PH'sında REM uykusu davranış bozukluğunun sıklığını belirlemek ve PH'da REM uyku kası atonisini incelemek amacıyla yapılan başka bir çalışmada 33 hastanın 19'unda (%58) atoni olmadan REM uykusu olduğunu bildirmişlerdir (89). PH'da görülen nonmotor bulguların varlığı veya yokluğuna göre oluşturulan gruplarda *APE1* Asp148Glu gen polimorfizminin farklı genotip frekansları bakımından anlamlı bir fark olup olmadığı anlaşılmıştır (Tablo 4.7).

PH'da bilişsel bozulma ve demans yaygındır. Toplam 233 PH dahil edildiği bir çalışmada; 140 hastada demans gelişmiştir (90). PH olan hastaların 20 yıllık takibinden

sonra, 136 hastanın 100'ü (%74) ölmüştür. Hayatta kalanların %83'ünde demans görülmüştür (91). *Parkin* gen mutasyonu açısından değerlendirilen 240 PH'nın dahil edildiği bir çalışmada, hastaların 29'unda (%12) birinci dereceden aile olanlarda PH öyküsü vardı. Bu hastalar ve etkilenen akrabaları, kardeş olan veya 50 yaşın altında hastalık başlangıcı olanlar, *parkin* mutasyonları açısından değerlendirildiğinde hastaların % 75'i homozigot *parkin* mutasyon taşıyıcılarıydı. *Parkin* mutasyonları olan hastalar, demansın son noktalarına ulaşmamış ve postural refleksleri bozulmuş, hem motor semptomlar hem de bilişsel gerileme için daha iyi huylu bir hastalık seyri göstermiştir (92). PH'nda görülen demans bulguları, H&Y Evrelemesine göre klinik evreleri ve ailede PH görülmesine göre oluşturulan gruplarda *APE1* Asp148Glu gen polimorfizminin farklı genotip frekansları bakımından anlamlı bir fark olmadığı anlaşılmıştır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında Parkinson hastalığı tanısı bulunan olgularda *APEI* Asp148Glu polimorfizminin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla oluşturulan hasta ve kontrol gruplarında;

1. Yaş ortalaması hasta grubunda 63.15 ± 10.512 ve kontrol grubunda 53.36 ± 7.441 olarak belirlenmiştir.
2. Hasta grubunda erkek sayısı 93, kadın sayısı 61, kontrol grubunda ise erkek sayısı 42, kadın sayısı 31 olarak belirlenmiştir. Dünya genelindeki çalışmalarla uyumlu olarak erkek hastaların sayısı kadın hastalardan fazla olduğu belirlenmiştir.
3. *APEI* Asp148Glu polimorfizmi açısından değerlendirilen hasta ve kontrol grupları arasında farklı genotip ve allel frekansları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.
4. Parkinson hastalığının ortalama başlangıç yaşı bakımından *APEI* Asp148Glu polimorfizmi için farklı genotiplere sahip olanlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.
5. Parkinson hastalarında görülen diskinezi tipleri bakımından oluşturulan gruplarda *APEI* Asp148Glu polimorfizminin farklı genotipleri için bir farklılık bulunmamıştır.
6. Parkinson hastalığının farklı klinik tipleri bakımından oluşturulan gruplarda *APEI* Asp148Glu polimorfizminin farklı genotipleri için bir farklılık bulunmamıştır.
7. Parkinson hastalığının farklı klinik evrelerinde bulunan hastalar ile oluşturulan gruplarda *APEI* Asp148Glu polimorfizminin farklı genotipleri için bir farklılık bulunmamıştır.
8. Parkinson hastalarında nonmotor bulguların görülmesi durumuna göre oluşturulan gruplarda *APEI* Asp148Glu polimorfizminin farklı genotipleri için bir farklılık bulunmamıştır.
9. Parkinson hastalarında demans bulgularının görülmesi durumuna göre oluşturulan gruplarda *APEI* Asp148Glu polimorfizminin farklı genotipleri için bir farklılık bulunmamıştır.
10. Hastalarda aile öyküsü bulgularının durumuna göre oluşturulan gruplarda *APEI* Asp148Glu polimorfizminin farklı genotipleri için bir farklılık bulunmamıştır.

11. Genetik polimorfizm üzerine yapılan çalışmalar, bireylerin hastalıklara olan duyarlılıkları bakımından bilgi veren çalışmalar olmuştur. Nöronal hücrelerdeki DNA onarım enzimlerinin uyumsuzluğunun daha iyi anlaşılması, PH'da nöroproteksiyona yönelik gen tedavisi için potansiyel bir hedef olabilir.
12. PH nörodejenerasyonunun etiyojisi bilinmemektedir, ancak son araştırmalar, BER proteinlerindeki yaşa bağlı ve oksidatif DNA hasarına bağlı değişikliklerin önemli katkılar sağlayabileceğini düşündürmektedir. DNA onarım eksikliğinin PH ile ilgili beyin fonksiyonu üzerindeki etkisini araştırmak ve olası terapötik seçenekleri keşfetmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

1. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkmann J, Schrag AE, Lang AE. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers* 2017,3(1):1-21.
2. Balestrino R, Schapira A. Parkinson disease. *Eur J Neurol* 2020,27(1):27-42.
3. Ogino M, Ichimura M, Nakano N, Minami A, Kitagishi Y, Matsuda S. Roles of PTEN with DNA Repair in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci* 2016,17(6):954.
4. Yang J-L, Chen W-Y, Chen S-D. The emerging role of GLP-1 receptors in DNA repair: Implications in neurological disorders. *Int J Mol Sci* 2017,18(9):1861.
5. Wood RD, Mitchell M, Sgouros J, Lindahl T. Human DNA repair genes. *Science* 2001,291(5507):1284-9.
6. Yang JL, Chen WY, Mukda S, Yang YR, Sun SF, Chen SD. Oxidative DNA damage is concurrently repaired by base excision repair (BER) and apyrimidinic endonuclease 1 (APE1)- initiated nonhomologous end joining (NHEJ) in cortical neurons. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2020,46(4):375-90.
7. Kang B, Mu S, Yang Q, Guo S, Chen X, Guo H. Ape1 protects against MPP+-induced neurotoxicity through ERK1/2 signaling in PC12 cells. *Neuroreport* 2017,28(1):10-6.
8. Coppedè F, Migliore L. DNA repair in premature aging disorders and neurodegeneration. *Curr Aging Sci* 2010;3(1):3-19.
9. Wilson III DM, Kim D, Berquist BR, Sigurdson AJ. Variation in base excision repair capacity. *Mutat Res* 2011,711(1-2):100-12.
10. Gülbay G. Polikistik over sendromlu olgularda XRCC1, APE1 ve XPD DNA tamir genlerindeki polimorfizmlerin araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, 2014.
11. Hadi MZ, Coleman MA, Fidelis K, Mohrenweiser HW, Wilson III DM. Functional characterization of Ape1 variants identified in the human population. *Nucleic Acids Res* 2000,28(20):3871-9.
12. Parkinson J. An essay on the shaking palsy (1817). London, *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2002,14(2):223-36.

13. Zesiewicz TA. Parkinson disease. *Continuum (Minneap Minn)* 2019,25(4):896-918.
14. Dorsey ER, Constantinescu R, Thompson J, Biglan K, Holloway R, Kieburtz K, Marshall FJ, Ravina BM, Schifitto G, Siderowf A, Tanner CM. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. *Neurology* 2007,68(5):384-6.
15. Çakmur R. Parkinson hastalığı ve medikal tedavisi. *Klin Gelişim* 2011,23(1):53-61.
16. Ascherio A, Schwarzschild MA. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. *Lancet Neurol* 2016,15(12):1257-72.
17. Tysnes OB, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)* 2017,124(8):901-5.
18. Torun Ş, Uysal M, Gücüyener D, Özdemir G. Parkinson's disease in Eskişehir, Turkey. *Eur J Neurol* 1995,2(suppl 1):44-5.
19. Durmus H, Gokalp MA, Hanagasi HA. Prevalence of Parkinson's disease in Baskale, Turkey: a population based study. *Neurol Sci* 2015,36(3):411-3.
20. Kouli A, Torsney KM, Kuan WL. Parkinson's Disease: Etiology, Neuropathology, and Pathogenesis. In: Stoker TB, Greenland JC, editors. *Parkinson's Disease: pathogenesis and clinical aspects*. Brisbane (AU): Codon Publications Copyright: The Authors 2018.
21. Jankovic J, Tolosa E. *Parkinson's disease and movement disorders*. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
22. Akbayır E, Şen M, Ay U, Şenyer S, Tüzün E, Küçükali Cİ. Parkinson hastalığının etyopatogenezi. *Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi* 2017,7(13):1-23.
23. Tan EK, Tan C, Fook-Chong SM, Lum SY, Chai A, Chung H, Shen H, Zhao Y, Teoh ML, Yih Y, Pavanni R, Chandran VR, Wong MC. Dose-dependent protective effect of coffee, tea, and smoking in Parkinson's disease: a study in ethnic Chinese. *J Neurol Sci* 2003,216(1):163-7.
24. Sveinbjornsdottir S. The clinical symptoms of Parkinson's disease. *J Neurochem* 2016,139:318-24.
25. Marras C, Lang A. Parkinson's disease subtypes: lost in translation? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013,84(4):409-15.

26. Wu Y, Guo XY, Wei QQ, Ou RW, Song W, Cao B, Zhao B, Shang HF. Non-motor symptoms and quality of life in tremor dominant vs postural instability gait disorder Parkinson's disease patients. *Acta Neurol Scand* 2016,133(5):330-7.
27. Hoehn MM, Yahr MD. Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology*. 1967,17(5):427-42.
28. Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008,79(4):368-76.
29. Adams R, Victor M, Ropper A. *The neurology of aging*. Principles of Neurology New York, McGraw-Hill 1997:608-20.
30. Adıgüzel A. Malatya İli ve Çevresinde İdiopatik Parkinson Hastalığının Profili. Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı. Tıpta Uzmanlı Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, 2018.
31. Draoui A, El Hiba O, Aimrane A, El Khiat A, Gamrani H. Parkinson's disease: from bench to bedside. *Rev Neurol (Paris)* 2020,176(7-8):543-59.
32. Hughes AJ, Daniel SE, Blankson S, Lees AJ. A clinicopathologic study of 100 cases of Parkinson's disease. *Arch neurol* 1993,50(2):140-8.
33. Kızıltan G. Parkinson hastalığının hareketle ilişkili ve ilişkisiz belirti ve bulguları. İçinde: Elibol B editör. *Hareket Bozuklukları*, 1. Baskı. Ankara: Rotatıp kitapevi, 2011:113-28.
34. Gilroy J. *Basic neurology*, 3rd. USA, McGraw-Hill Professional Publishing, 2000.
35. Caballol N, Martí MJ, Tolosa E. Cognitive dysfunction and dementia in Parkinson disease. *Movement disorders: official journal of the Mov Disord* 2007,22(S17):S358-S66.
36. Emre M, Aarsland D, Brown R, Burn DJ, Duyckaerts C, Mizuno Y, Broe GA, Cummings J, Dickson DW, Gauthier S, Goldman J, Goetz C, Korczyn A, Lees A, Levy R, Litvan İ, McKeith L, Olanow W, Poewe W, Quinn N, Sampaio C, Tolosa E, Dubois B. Clinical diagnostic criteria for dementia associated with Parkinson's disease. *Movement disorders: official journal of the Move Disord* 2007,22(12):1689-707.

37. Oertel W, Schulz JB. Current and experimental treatments of Parkinson disease: A guide for neuroscientists. *J Neurochem* 2016,139:325-37.
38. Kaplan N, Vituri A, Korczyn AD, Cohen OS, Inzelberg R, Yahalom G, Kozlova E, Milgrom R, Laitman Y, Friedman E, Rosset S, Baer SH. Sequence variants in SLC6A3, DRD2, and BDNF genes and time to levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. *J Mol Neurosci* 2014,53(2):183-8.
39. Santos-Lobato BL, Borges V, Ferraz HB, Mata IF, Zabetian CP, Tumas V. Association of a neuronal nitric oxide synthase gene polymorphism with levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease. *Nitric Oxide* 2018,74:86-90.
40. Dickson DW, Braak H, Duda JE, Duyckaerts C, Gasser T, Halliday GM, Hardy J, Leverenz JB, Tredici KD, Wszolek ZK, Litvan Ī. Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria. *Lancet Neurol* 2009,8(12):1150-7.
41. Heimer L. The Human Brain And Spinal Cord. In: Heimer L(ed). *Basal ganglia*, Newyork, Springer, 1983:199-209.
42. Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. *Lancet* 2015,386(9996):896-912.
43. Davie CA. A review of Parkinson's disease. *Br Med Bull* 2008,86(1):109-27.
44. Olanow CW, Stern MB, Sethi K. The scientific and clinical basis for the treatment of Parkinson disease. *Neurology* 2009,72(21 Supplement 4):S1-S136.
45. Zecca L, Stroppolo A, Gatti A, Tampellini D, Toscani M, Gallorini M, Giaveri G, Arosio P, Santambrogio P, Fariello RG, Karatekin E, Kleinman MH, Turro N, Hornykiewicz O, Zucca FA. The role of iron and copper molecules in the neuronal vulnerability of locus coeruleus and substantia nigra during aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004,101(26):9843-8.
46. Rivera-Mancía S, Pérez-Neri I, Ríos C, Tristán-López L, Rivera-Espinosa L, Montes S. The transition metals copper and iron in neurodegenerative diseases. *Chem Biol Interact* 2010,186(2):184-99.
47. Dexter DT, Jenner P. Parkinson disease: from pathology to molecular disease mechanisms. *Free Radic Biol Med* 2013,62:132-44.

48. Nakamura T, Lipton SA. Cell death: protein misfolding and neurodegenerative diseases. *Apoptosis* 2009,14(4):455-68.
49. Giasson BI, Lee VM-Y. Are ubiquitination pathways central to Parkinson's disease? *Cell* 2003,114(1):1-8.
50. Blesa J, Trigo-Damas I, Quiroga-Varela A, Jackson-Lewis VR. Oxidative stress and Parkinson's disease. *Front Neuroanat* 2015,9:91.
51. Hegde ML, Mantha AK, Hazra TK, Bhakat KK, Mitra S, Szczesny B. Oxidative genome damage and its repair: implications in aging and neurodegenerative diseases. *Mech Ageing Dev* 2012,133(4):157-68.
52. Yang J-L, Weissman L, Bohr VA, Mattson MP. Mitochondrial DNA damage and repair in neurodegenerative disorders. *DNA repair* 2008,7(7):1110-20.
53. Kurtoğlu El, Tekedereli İ. Dna Onarım Mekanizmaları. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi* 2015,4(3):169-77.
54. Slupphaug G, Kavli B, Krokan HE. The interacting pathways for prevention and repair of oxidative DNA damage. *Mutat Res* 2003,531(1-2):231-51.
55. Krokan HE, Bjørås M. Base excision repair. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013,5(4):a012583.
56. Martin LJ. DNA Damage and Repair: Relevance to Mechanisms of Neurodegeneration. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008,67(5):377-87.
57. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Ünsal-Kaçmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem* 2004,73(1):39-85.
58. Onur E, Tuğrul B, Bozyiğit F. DNA Damage and Repair Mechanisms. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2009,7(2):61-70.
59. Ronen A, Glickman BW. Human DNA repair genes. *Environ Mol Mutagen* 2001,37(3):241-83.
60. Abbotts R, Madhusudan S. Human AP endonuclease 1 (APE1): from mechanistic insights to druggable target in cancer. *Cancer Treat Rev* 2010,36(5):425-35.
61. Yoshida A, Urasaki Y, Waltham M, Bergman AC, Pourquier P, Rothwell DG, Inuzuka M, Weinstein JN, Ueda T, Apella E, Hickson LD, Pommier Y. Human

- apurinic/apyrimidinic endonuclease (Ape1) and its N-terminal truncated form (AN34) are involved in DNA fragmentation during apoptosis. *J Biol Chem* 2003,278(39):37768-76.
62. Meira LB, Devaraj S, Kisby GE, Burns DK, Daniel RL, Hammer RE, Grundy S, Jialal I, Friedberg EC. Heterozygosity for the mouse Apex gene results in phenotypes associated with oxidative stress. *Cancer Res* 2001,61(14):5552-7.
63. Ludwig DL, MacInnes MA, Takiguchi Y, Purtymun PE, Henrie M, Flannery M, Meneses J, Pedersen RA, Chen DJ. A murine AP-endonuclease gene-targeted deficiency with post-implantation embryonic progression and ionizing radiation sensitivity. *Mutat Res* 1998,409(1):17-29.
64. Xanthoudakis S, Smeyne RJ, Wallace JD, Curran T. The redox/DNA repair protein, Ref-1, is essential for early embryonic development in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996,93(17):8919-23.
65. Gu D, Wang M, Wang S, Zhang Z, Chen J. The DNA repair gene APE1 T1349G polymorphism and risk of gastric cancer in a Chinese population. *PloS One* 2011,6(12):e28971.
66. O'Hara AM, Bhattacharyya A, Mifflin RC, Smith MF, Ryan KA, Scott KG-E, Naganuma M, Casola A, Izumi T, Mitra S, Ernst PB, Crowe S. Interleukin-8 induction by *Helicobacter pylori* in gastric epithelial cells is dependent on apurinic/apyrimidinic endonuclease-1/redox factor-1. *J Immunol* 2006,177(11):7990-9.
67. Ito H, Matsuo K, Hamajima N, Mitsudomi T, Sugiura T, Saito T, Yasue T, Lee KM, Kang D, Yoo KE, Sato S, Ueda R, Tajima K. Gene-environment interactions between the smoking habit and polymorphisms in the DNA repair genes, APE1 Asp148Glu and XRCC1 Arg399Gln, in Japanese lung cancer risk. *Carcinogenesis* 2004,25(8):1395-401.
68. Gencer M, Dasdemir S, Cakmakoglu B, Cetinkaya Y, Varlibas F, Tireli H, Kuçukali Cİ, Ozkok E, Aydin M. DNA repair genes in Parkinson's disease. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012,16(6):504-7.

69. Scott TL, Wicker CA, Suganya R, Dhar B, Pittman T, Horbinski C, Izumi T. Polyubiquitination of apurinic/aprimidinic endonuclease 1 by Parkin. *Mol Carcinog* 2017,56(2):325-36.
70. Breton CV, Kile ML, Catalano PJ, Hoffman E, Quamruzzaman Q, Rahman M, Mahiuddin G, Christiani DC. GSTM1 and APE1 genotypes affect arsenic-induced oxidative stress: a repeated measures study. *Environ Health* 2007,6(1):1-9.
71. Sanders LH, Paul KC, Howlett EH, Lawal H, Boppana S, Bronstein JM, Ritz B, Greenamyre JT. Editor's highlight: base excision repair variants and pesticide exposure increase Parkinson's disease risk. *Toxicol Sci* 2017,158(1):188-98.
72. Benito-León J, Bermejo-Pareda F, Rodríguez J, Molina J, Gabriel R, Morales J. for The Neurological Disorders in Central Spain (NEDICES) Study Group Prevalence of PD and Other Types of Parkinsonism in three elderly populations in Central Spain. *Mov Disord* 2003,18(3):267-74.
73. Van Den Eeden SK, Tanner CM, Bernstein AL, Fross RD, Leimpeter A, Bloch DA, Nelson LM. Incidence of Parkinson's disease: variation by age, gender, and race/ethnicity. *Am J Epidemiol* 2003,157(11):1015-22.
74. De Rijk M, Breteler M, Graveland G, Ott A, Grobbee D, Van der Meche F, Hofman A. Prevalence of Parkinson's disease in the elderly: the Rotterdam Study. *Neurology* 1995,45(12):2143-6.
75. Tison F, Dartigues J, Dubes L, Zuber M, Alperovitch A, Henry P. Prevalence of Parkinson's disease in the elderly: a population study in Gironde, France. *Acta neurol Scand* 1994,90(2):111-5.
76. De Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2006,5(6):525-35.
77. Szewczyk-Krolikowski K, Tomlinson P, Nithi K, Wade-Martins R, Talbot K, Ben-Shlomo Y, TM Hu M. The influence of age and gender on motor and non-motor features of early Parkinson's disease: initial findings from the Oxford Parkinson Disease Center (OPDC) discovery cohort. *Parkinsonism Relat disord* 2014,20(1):99-105.

78. van Rooden SM, Colas F, Martínez- Martín P, Visser M, Verbaan D, Marinus J, Chaudhuri RK, Kok JN, van Hilten JJ. Clinical subtypes of Parkinson's disease. *Mov Disord* 2011,26(1):51-8.
79. Sweet Rd, Mcdowell FH. Five years' treatment of Parkinson's disease with levodopa: therapeutic results and survival of 100 patients. *Ann Intern Med* 1975,83(4):456-63.
80. Barbeau A. Six years of high-level levodopa therapy in severely akinetic parkinsonian patients. *Arch Neurol* 1976,33(5):333-8.
81. Holloway RG, Shoulson I, Fahn S, Kieburtz K, Lang A, Marek K, McDermott M, Seibyl J, Weiner W, Musch B, Kamp C, Welsh M, Shinaman A, Pahwa R, Barclay L, Hubble J, LeWitt P, Miyasaki J, Suchowersky O, Stacy M, Russell DS, Ford B, Hammerstad J, Riley D, Standaert D, Wooten F, Factor S, Jankovic J, Atassi F, Kurlan R, Panisset M, Rajput A, Rodnitzky R, Shults C, Petsinger G, Waters C, Pfeiffer R, Biglan K, Borchert L, Montgomery A, Sutherland L, Weeks C, DeAngelis M, Sime E, Wood S, Pantella C, Harrigan M, Fussell B, Dillon S, Alexander-Brown B, Rainey P, Tennis M, Rost-Ruffner E, Brown D, Evans S, Berry D, Hall J, Shirley T, Dobson J, Fontaine D, Pfeiffer B, Brocht A, Bennett S, Daigneault S, Hodgeman K, O'Connell C, Ross T, Richard K, Watts A. Pramipexole vs levodopa as initial treatment for Parkinson disease: a 4-year randomized controlled trial. *Arch Neurol* 2004,61(7):1044-53.
82. Horstink M, Zijlmans J, Pasma J, Berger H, Van't Hof M. Severity of Parkinson's disease is a risk factor for peak-dose dyskinesia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990,53(3):224-6.
83. Martin WE, Loewenson RB, Resch JA, Baker AB. Parkinson's disease: Clinical analysis of 100 patients. *Neurology* 1973,23(8):783.
84. Goldenberg MM. Medical management of Parkinson's disease. *P T* 2008,33(10):590.
85. Bhidayasiri R. Differential diagnosis of common tremor syndromes. *Postgrad Med J* 2005,81(962):756-62.
86. Hanagasi HA, Akat S, Gurvit H, Yazici J, Emre M. Pain is common in Parkinson's disease. *Clin Neurol Neurosurg* 2011,113(1):11-3.
87. Lee MA, Walker RW, Hildreth TJ, Prentice WM. A survey of pain in idiopathic Parkinson's disease. *J Pain Symptom Manage* 2006,32(5):462-9.

88. Scaglione C, Vignatelli L, Plazzi G, Marchese R, Negrotti A, Rizzo G, Lopane G, Bassein L, Maestri M, Bernardini S, Martinelli P, Abbruzzese G, Calzetti S, Bonuccelli U, Provini F, Coccagna G. REM sleep behaviour disorder in Parkinson's disease: a questionnaire-based study. *Neurol Sci* 2005,25(6):316-21.
89. Gagnon J-F, Bédard M-A, Fantini M, Petit D, Panisset M, Rompre S, Carrier J, Montplaisir J. REM sleep behavior disorder and REM sleep without atonia in Parkinson's disease. *Neurology* 2002,59(4):585-9.
90. Buter T, Van Den Hout A, Matthews F, Larsen J, Brayne C, Aarsland D. Dementia and survival in Parkinson disease: a 12-year population study. *Neurology* 2008,70(13):1017-22.
91. Hely MA, Reid WG, Adena MA, Halliday GM, Morris JG. The Sydney multicenter study of Parkinson's disease: the inevitability of dementia at 20 years. *Mov Disord* 2008,23(6):837-44.
92. Inzelberg R, Schecthman E, Paleacu D, Zach L, Bonwitt R, Carasso R, Nisipeanu P. Onset and progression of disease in familial and sporadic Parkinson's disease. *Am J Med Genet A* 2004,124(3):255-8.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ



EK-2. ETİK KURUL ONAYI





