



T.C. CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

LEVODOPA VE AMANTADİNİN İNSAN UMBLİKAL VEN
ENDOTELYAL HÜCRE CANLILIĞI ÜZERİNE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Gülsüm ÇİL
UZMANLIK TEZİ
SİVAS
2013



T.C. CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

LEVODOPA VE AMANTADİNİN İNSAN UMBİLİKAL VEN

ENDOTELYAL HÜCRE CANLILIĞI ÜZERİNE

ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Gülsüm ÇİL

UZMANLIK TEZİ

Danışman Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Suat TOPAKTAŞ

SİVAS

2013

ONAY SAYFASI

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Nöroloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Üye: Prof. Dr. Suat TOPAKTAŞ

Üye: Prof. Dr. Ertuğrul BOLAYIR

Üye: Doç. Dr. Özlem KAYIM YILDIZ

Bu tez, 28.02.2013 tarih ve 2013/10 sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Gökhan KÖYLÜOĞLU

Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 10/02/2010 tarih ve 2010 / 1-2 sayılı kararı ile kabul edilen "Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesine" göre hazırlanmıştır.

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Suat TOPAKTAŞ'a, uzmanlık eğitimim boyunca yaptıkları akademik katkılarından dolayı Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Ertuğrul BOLAYIR'a, asistanlığım süresince eğitimime katkıda bulunan Sayın Doç. Dr. Özlem KAYIM YILDIZ'a, çalışmam boyunca yardımlarından dolayı ve değerli bilgilerinden faydalandığım Sayın Yrd. Doç. Dr. Hatice BALABAN'a, her türlü fedakarlıkta bulunarak laboratuvar çalışmalarını büyük bir özenle üstlenen Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. Zübeyde AKIN POLAT'a, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum kliniğimizin tüm asistan, hemőire ve personeline, emeklerini nasıl ödeyeceğimi hiç bilmediğim sevgili aileme, hayatımın her anında hep yanımda olan, benden sevgi destek ve anlayıőını esirgemeyen sevgili eőime, son bir buçuk yıldır hayatımı renklendiren değerli varlığım kızım Ezgi'ye, sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
KISALTMALAR	ii
TABLOLAR	iv
ŞEKİLLER.....	v
ÖZET.....	vi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. ANJİOGENEZ.....	3
2.1.1.Tanımı Ve Mekanizması.....	3
2.1.2.Nörolojik Hastalıklarda Anjiogenezin Rolü.....	4
2.2. PARKİNSON HASTALIĞI.....	5
2.2.1.Tanım Ve Sınıflandırma.....	5
2.2.2.Epidemiyoloji.....	8
2.2.3.Etyoloji.....	9
2.2.4. Parkinson Hastalığı'nın Nöropatolojisi.....	11
2.2.5. Parkinson Hastalığı'nın Nöroanatomik Mekanizmaları.....	12
2.2.6.Parkinson Hastalığı'nın Klinik Özellikleri.....	15
2.2.7.Parkinson Hastalığı'nın Tedavisi.....	20
2.3. PARKİNSON HASTALIĞI'NDA MOTOR KOMPLİKASYONLAR	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇ.....	50
7. KAYNAKLAR.....	51

KISALTMALAR

PH: Parkinson hastalığı

L-Dopa: Levodopa

LID: Levodopa induced dyskinesia

SNpc: Substantia nigra pars compacta

TNF α : Tumor nekrosis faktör α

VEGF: Vasküler endotelial growth faktör

AH: Alzhiemer hastalığı

MS: Multipl skleroz

IL-1 β : İnterlökin 1 β

SN: Substantia nigra

KBB: Kan beyin bariyeri

NMDA: N-metil-D-aspartik asit

MSN: Orta boy dikensi çıkıntılı nöronlar

HUVEC: Human Umbilical Vein Endothelial Cell

MMP: Matriks metalloproteinaz

PI3- KİNAZ: Fosfotidilinozitol 3 kinaz

MPTP: 1-metil-4-fenil 1, 2, 3, 6 tetrahidropiridin

PSP: Progresif supranükleer paralizi

KBD: Kortikobazal dejenerasyon

MSA: Multisistem Atrofi

SDS: Shy-Drager sendromu

SND: Striatonigral dejenerasyon

OPCA: Olivopontoserebellar atrofi

PDACG: Guam'ın parkinsonizm-demans-ALS kompleksi

LC: Lewy Cisimciği

PET: Pozitron emisyon tomografisi

UCH-L1: Ubikitin karboksi-terminal hidrolaz

GPI: Globus pallidus internus

SNr: Substantia nigra pars retikulata

GPe: Globus pallidus eksternus

STN: Subtalamik nukleus

KOMT: Katekol-O-Metiltransferaz

MAO-B: Monoaminoksidaz B

DBS: Derin beyin stimölasyonu

YFS: Yüksek frekanslı stimölasyonu

DARPP-32: Dopamine- and cAMP-regulated neuronal phosphoprotein

6-OHDA: 6- hidroksidopamin

ATCC: American Type Culture Collection

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle's Medium

FBS: Fetal bovine serum

WST-1: 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino)-carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide) testi

OD: Optikal dansitesi

ANOVA: Tek yönlü varyans analizi

BrdU: 5-bromo- 2 - deoxyuridine

EP: Entopedunculer nucleus

EBA: Endotelyal bariyer antijenleri

GLU: Glutamat

GABA: Gama aminobütirik asit

TABLolar

Tablo 1: Parkinson Hastalığı'nın Histopatolojik Doğrulaması İçin

Önerilen Ölçütler.....12

Tablo 2: Parkinson Hastalığı'nın Klinik Tanısı.....19

Tablo 3: Hücre Kültür Ortamının Hazırlanmasında Kullanılan Malzemeler.....31

Tablo 4: Test Sıvılarının Mikroplate İçindeki Yerleşimleri.....35

Tablo 5: İlaçların Maximum Konsantrasyonlarının 24, 48 Ve 72. Saatte

HUVEC Canlılık Skoruna Etkisi.....38

Tablo 6: İlaçların Minimum Konsantrasyonlarının 24, 48 Ve 72. Saatte

HUVEC Canlılık Skoruna Etkisi.....39

Tablo 7: Levodopa 10^{-5} Konsantrasyonunun Tek Başına Ve Amantadin 10^{-5} , 10^{-6} ve

10^{-7} Konsantrasyonlarının Eklenmesi İle Oluşturulan Grupların HUVEC

Canlılık Skoruna Etkisi.....42

Tablo 8: Levodopa 10^{-6} Konsantrasyonunun Tek Başına Ve Amantadin 10^{-5} , 10^{-6} ve

10^{-7} Konsantrasyonlarının Eklenmesi İle Oluşturulan Grupların HUVEC

Canlılık Skoruna Etkisi.....43

Tablo 9: Levodopa 10^{-7} Konsantrasyonunun Tek Başına Ve Amantadin 10^{-5} , 10^{-6} ve

10^{-7} Konsantrasyonlarının Eklenmesi İle Oluşturulan Grupların HUVEC

Canlılık Skoruna Etkisi.....44

ŞEKİLLER

Şekil 1: Parkinson Hastalığının Nöroanatomik Mekanizmaları.....	14
Şekil 2: Hücre Kültüründe Kullanılan Malzemeler.....	31
Şekil 3: HUVEC Hücre Serisindeki Hücrelerin ×100 Büyütmedeki Görünümü.....	32
Şekil 4: HUVEC Hücre Serisindeki Hücrelerin ×200 Büyütmedeki Görünümü.....	33
Şekil 5: WST-1 Solüsyonu Eklendikten Sonra Turuncu Renk Almış Mikroplate Kuyucuklarının Görünümü.....	36
Şekil 6: Levodopanın Farklı Konsantrasyonlarının 24, 48 Ve 72. Saatte HUVEC Canlılık Skoruna Etkisi.....	40
Şekil 7: Amantadinin Farklı Konsantrasyonlarının 24, 48 Ve 72. Saatte HUVEC Canlılık Skoruna Etkisi.....	41
Şekil 8: Vandetanibin Farklı Konsantrasyonlarının 24, 48 Ve 72. Saatte HUVEC Canlılık Skoruna Etkisi.....	41

ÖZET

L-DOPA VE AMANTADİNİN İNSAN UMBLİKAL VEN ENDOTELYAL HÜCRE CANLILIĞI ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Parkinson hastalığı (PH) hareketlerde yavaşlama, rigidite, postural instabilite ve istirahat tremoru ile karakterize progresif nörodejeneratif bir hastalıktır. Levodopa (L-Dopa) PH tedavisinde ilk tercih edilecek ilaçlardan biri olup, kronik kullanımının tetiklediği diskinezi olarak değerlendirilen istenmeyen hareketler en önemli motor komplikasyonlardan biridir. Nigrostriatal endotelial proliferasyon ve bozulmuş kan beyin bariyeri, L-Dopanın etkilenmiş beyin bölgelerine hızlı ve geniş dağılımına neden olarak L-Dopaya bağlı diskinezi (LID-“Levodopa induced dyskinesia”) ve motor dalgalanmalarda önemli bir patofizyolojik role sahiptir. NMDA-glutamat reseptör antagonisti olan amantadin LID önlenmesinde kullanılan antiviral bir ilaçtır.

Bu çalışmada L-Dopa ve amantadinin insan umblikal ven endotelial hücre (HUVEC) kültüründe hücresel canlılık üzerine etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık. Bu amaçla HUVEC hücre serisi 24 saat 37⁰C ve % 5 CO₂'li ortamda etüvde inkübe edilmiştir. Kontrol grubu ayrıldıktan sonra kuyucuklara tek başına L-Dopa, amantadin ve vandetanib 10⁻⁵, 10⁻⁶ ve 10⁻⁷ konsantrasyonlarda ve L-Dopa /Amantadin kombinasyonu eklenerek 24,48 ve 72 saat süreyle inkübasyona devam edilmiştir. Deney plağına WST-1 solüsyonu eklendikten sonra 450 nm dalga boyunda mikropate okuyucusunda okutularak her deney grubunda bulunan hücreler ve ilaç uygulanmayan kontrol grubundaki hücrelerin canlılıkları analiz edilmiştir. Kontrol grubundaki hücrelerin canlılık skoru % 100 olarak kabul edilerek ilaç uygulanan deney grubundaki hücrelerin canlılığı kontrol grubuna göre hesaplanmıştır. Buna göre ilaçların maximum konsantrasyonda uygulandığı deney grupları karşılaştırıldığında 24. saatte en yüksek hücresel canlılık skoru L-Dopa grubunda % 118 iken, ilaçların minimum konsantrasyonda uygulandığı deney gruplarında anlamlı olarak en yüksek canlılık skoru amantadin ile elde edilmiştir(p<0,05). Tek başına L-Dopa ve L-Dopa/Amantadin kombinasyonunun

uygulandığı gruplar birlikte değerlendirildiğinde ise hücresele canlılık skorları tek başına L-Dopa grubunda 24. saatte anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur($p < 0,05$).

Parkinson hastalığı tedavisinde ortaya çıkan diskinezinin etyopatogenezinde yer alan önemli faktörlerden biri olan anjiogenezin engellenmesinde; antidiskinetik bir ajan olan amantadinin dopaminerjik tedaviye erken dönemde eklenmesi diskinezilerin ortaya çıkmasında engelleyici bir faktör olabilir.

Anahtar kelimeler: Levodopa, amantadin, diskinezi, insan umblikal ven endotelyal hücre, anjiogenez

ABSTRACT

EVALUATION OF THE EFFICACY OF L-DOPA AND AMANTADINE ON VIABILITY OF HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIAL CELL

Parkinson's disease (PD), is a progressive neurodegenerative disease characterized by slowing motion, rigidity, postural instability and resting tremor. Levodopa (L-dopa) is the first choice drug in the treatment of PD, chronic use causes dyskinesia which is one of the most important motor complications as involuntary movements. Endothelial proliferation and altered blood–brain barrier (BBB) permeability can potentially affect the kinetics of L-DOPA entry into the affected brain regions. Large and rapid fluctuations in brain levels of L-DOPA have a prime pathophysiological role in L-DOPA-induced dyskinesia (LID) and motor fluctuations. Amantadine is an antagonist of the NMDA type glutamate receptor, that has shown to reduce LID.

In this study, we aimed to evaluate the effect of L-Dopa and amantadine on cellular viability at human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) culture. Cultivation of HUVEC was performed in an incubator having 5 % CO₂ at 37⁰C until cell monolayers attained confluence which occurred after 24h. After leaving the control group, L-DOPA and amantadine with concentrations of 10⁻⁵, 10⁻⁶ ve 10⁻⁷ and their combinations were used for the proliferation assay in which cells were incubated for 24, 48, and 72 h with these drugs. The cell viability was assessed using the cleavage of WST added to the culture medium and the absorbance of the samples was measured at 450 nm using a microtitre plate reader. The viability score of the control group was defined as 100 % and the viability score of the study drugs on HUVEC was calculated with respect to their negative controls. Among the study drugs with in 24h maximal concentration used in the experiments, L-DOPA was found to be significantly associated with the highest viability score (%118), while amantadin with minimum concentration showed the highest viability score (p<0,05). The combination of L-Dopa/Amantadin and alone L-Dopa groups were assessed

with together, cellular vitality scores were significantly higher in L-dopa alone group with in 24h.

Inhibition of angiogenesis which is one of the important factors in the pathogenesis of dyskinesia in the treatment of Parkinson's disease, the addition of an anti-dyskinetic agent amantadine in the early period of dopaminergic therapy can be a hindering factor in the occurrence of dyskinesias.

Key words: Levodopa, amantadine, dyskinesia, human umbilical vein endothelial cells, angiogenesis

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Parkinson hastalığı (PH) hareketlerde yavaşlama, rigidite, postural instabilite ve istirahat tremoru ile karakterize progresif nörodejeneratif bir hastalıktır(1). Klinik bulgular substantia nigra pars compacta (SNpc) daki dopaminerjik nöronların kaybı ve striatuma azalmış projeksiyonları ile lokus serelousu da içeren beynin diğer bölgelerindeki nörodejeneratif değişikliklerin sonucudur (2).

Parkinson hastalığının klasik histolojik bulgusu, dejenere nöronlarda başta α -synuclein olmak üzere pek çok agrege proteinleri içeren stoplazmik inklüzyon cisimciklerinden oluşan Lewy cisimcikleridir. PH' da aynı zamanda artmış mikroglia aktivitesi vardır (3-5). Mikroglialar, aktivasyon nedeniyle tümör nekrozis faktör α (TNF α), interlökin 1 β (IL-1 β) ve transforming growth faktör β gibi dopaminerjik nöronların ölümünden sorumlu proinflamatuvar sitokinler salgırlar (4). Salgılanan bu sitokinler sadece proinflamatuvar değil aynı zamanda pro-angiogenik özelliğe sahiptir (6). Parkinson hastalığında SNpc da vasküler endotelial growth faktör (VEGF) düzeyi yüksek olarak bulunmuştur (7,8). Primatlarda yapılan hayvan çalışmalarında substansia nigra (SN) daki dejenere dopaminerjik nöronlar incelenerek VEGF salınımındaki artış ile korele olarak kan damarlarının sayısında da artış olduğunu gösterilmiştir (9). Buna göre anjiogenetik değişiklikler PH nın altında yatan patofizyolojik süreçleri izah edebilir.

Parkinson Hastalığı tedavisinde Levodopa (L-Dopa) ilk tercih edilecek ilaçlardan biridir. Dopamin aminoasit prekürsörü olan L-Dopa öncelikle striatumdaki tükenmiş dopamini yerine koyarak etki gösterir. Özellikle kronik kullanımının tetiklediği ve yıllar içerisinde ortaya çıkan dizkinezi olarak değerlendirilen istenmeyen hareketler L-dopa tedavisine bağlı önemli motor komplikasyonlardan biridir(1).

Parkinson Hastalığı rat modeli çalışmasında L-Dopa ile tedavinin endotelial hücre proliferasyonuna, kan beyin bariyeri (KBB) bütünlüğünde bozulmaya ve bazal gangliyonların çekirdeklerinde mikrovasküler yatakta genişlemeye neden olduğu gösterilmiştir (10). Endotelial proliferasyon ve bozulmuş KBB etkilenmiş beyin bölgelerine L-Dopa giriş kinetiğini etkileyerek motor komplikasyonların oluşmasına

neden olabilir. Beyin dokusundaki L-Dopa ve dopaminin hızlı ve geniş dağılımı, L-dopa'ya bağlı diskinezi (LID-“Levodopa induced dyskinesia”) ve motor dalgalanmalarda önemli bir patofizyolojik role sahip olabilir (11,12).

L-dopa'ya bağlı diskinezi oluşumuna neden olan moleküler mekanizmalar incelendiğinde, ön planda dopamin-D1 ve N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptörlerinin ve anormal sinaptik plastisitenin sorumlu olduğu görülmektedir (13). L-dopa'ya bağlı diskinezi gelişim mekanizmaları ilk olarak incelenmeye başlandığında ön planda dopaminin presinaptik olarak depolanmasındaki bozukluk üzerinde durulmuş, sonraki yıllarda ise postsinaptik değişiklikler üzerinde durularak, kortikostriatal terminaller, dopamin reseptörleri ve orta boy dikensi çıkıntılı nöronlar (MSN) incelenmiştir. Yakın dönemde ise tekrar LID patogenezi presinaptik plastisite değişikliklerinin de rol oynayabileceği gündeme gelmiştir (12).

PH tedavisinde kullanılan Amantadin NMDA-glutamat reseptör antagonisti antiviral bir ilaçtır. Erken evredeki hastalara her türlü belirtiyeye yönelik olarak verilebilir. İleri evredeki hastalarda LID önlenmesinde kullanılır(14).

Bu çalışmada LID patofizyolojisinin aydınlatılması ve amantadinin diskineziyi önleme mekanizmasının araştırılması hedeflenmiştir. Çalışmanın planlanmasında, LID gelişiminde anjiogenetik değişikliklerinin önemli rolü olduğu hipotezi belirleyici olmuştur. Bu çalışmada hemostaz, anjiogenez ve immunolojik araştırmalarda in vitro model olarak kullanılan insan umbilikal ven endotelial hücrelerinde (HUVEC) L-Dopa ve amantadinin hücresel canlılık üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ANJİOGENEZ

2.1.1 Tanımı Ve Mekanizması

Anjiogenez yeni kapiller damar gelişimi olup embriyonik gelişim, yara iyileşmesi ve organ hipertrofisi gibi fizyolojik olaylar döneminde görülmektedir. Ancak kontrolsüz anjiogenez birçok patolojik durumun varlığında; diyabetik retinopati, ateroskleroz, kronik enflamasyon, tümör büyümesi ve metastazından sorumlu tutulmaktadır. Anjiogenez ekstrasellüler matriks, solubl faktör ve hücreler arasındaki etkileşim sonucu; endotelial hücrelerin differansiasyonu, migrasyonu ve proliferasyonu ile seyreden kompleks bir işlemdir (15).

İlk basamak basal membranın, mikrovasküler basal membran ve intertisyuma ayrılmasıdır. Ayrılma matriks metalloproteinaz (MMP) enzimleri ile oluşur. 20'den fazla MMP enzimi vardır (16). MMP'ler anjiogenezin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve MMP-9 (jelatinaz B) ekstra sellüler matriksin çözünmesinde, yeni damar oluşumunun başlangıcında ve devam etmesinde önemli görev alır (17).

Proteoliz sonrasında, endotel hücreleri, anjiogenik uyarı sonucunda bazal membranda oluşan deliğe doğru göç ederek tomurcuklanır. Tomurcuğun ortasındaki endotel hücreleri mitoz girer. Tomurcuğun ucundaki endotel hücreleri göç etmeye devam eder ancak bölünmez. Başlangıçta endotel hücreleri solid bir tomurcuk oluşturur. Sonuçta lümenli bir hale gelir. Tomurcuklar son halinde birbiri ile var olan damarlarla anastomoz yaparak kapiller ağ oluşturur. Daha sonra endotel hücreleri yeni bir bazal membran oluşturur ve sonuçta kapillerler boyunca perisitler gelişir ve kan akmaya başlar (16).

Anjiogenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulan VEGF'dür. VEGF 46 kilodalton ağırlığında, homodimerik, heparin-binding glikoprotein yapısında bir molekül olup çeşitli alt grupları tanımlanmıştır.. VEGF A, B, C, D, E ya da aminoasit sayılarına göre VEGF121, VEGF165, VEGF189, VEGF206 ve VEGF145 gibi izoformları bulunmaktadır (18). VEGF biyolojik

aktivitesini temel olarak üç reseptörü aracılığı ile gerçekleştirir. Tirozin kinaz yapısında olan bu reseptörleri VEGF-R1 (flt-1), VEGF-R2 (flk-1/KDR) ve VEGF-R3 (flt-4) olarak sıralanabilir. Bunlardan VEGF-R1 ve R2 endotel hücreleri üzerinde iken VEGF-R3 lenf damarları üzerinde bulunmaktadır (19,20). VEGF reseptörlerinin aktivasyonu; fosfolipaz-C, fosfoinositol-3 kinaz ve ras GTPaz aktivatör proteinleri gibi bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinlerini fosforile ederek endotel hücrelerinin proliferasyon, migrasyon ve diferansiyasyonunu sağlar (21). Ayrıca, VEGF muhtemel temel anjiogenik faktör olma özelliği yanında; VEGF' e maruz kalan damarlarda, endotel hücreleri arasında fenestrasyon, vesiküler organeller ve transselüler gap oluşumuna olanak sağlayarak vasküler permeabilityyi artırır (22). Endotel hücreleri için migratuar özelliğinin yanı sıra VEGF; hücre dışı matriks yıkımından sorumlu olan MMP ile urokinaz ve doku- tipi plazminojen aktivatörlerinin salınımını da uyarır. Böylelikle invazyon ve metastazı da kolaylaştırır (23). Ayrıca VEGF'ün, bcl-2 ekspresyonunu indüklemek yoluyla endotelial hücreler için sağkalım faktörü olabileceği gösterilmiştir (24). VEGF makrofaj, mastosit, fibroblast, keratinosit ve düz kas hücresi gibi pek çok hücreden salgılanır. Endotel hücreleri VEGF üretmez ancak üzerlerinde VEGF için reseptör taşırlar (25). VEGF salınımına etkili faktörler hipoksi, inflamatuvar sitokinler, reaktif oksijen radikalleri, nitrik oksit ve hormonlardır. VEGFR-1 ve VGFR-2 arasında doğru bir denge yokluğunda kontrol edilemeyen inflamatuvar anjiogenez oluşur. Bu da psörisis, romatoid artrit, ateroskleroz, diyabetik retinopati, maküler dejenerasyon, prematür retinopatisi ve tümör gelişimi gibi patolojik durumlara yol açabilir. Bu tip hiperpermeabl kapiller yapılar anormal ve zayıftır (26).

2.1.2 NÖROLOJİK HASTALIKLARDA ANJİOGENEZİN ROLÜ

Beyin plastisitesi sadece nöronlarla sınırlı kalmayıp aynı zamanda nörovasküler ünite olarak adlandırılan astrosit ve mikrovasküler hücreleri de içerir ki birçok nörolojik hastalıkta bu ünite fonksiyonel ve yapısal adaptasyonlar görülür (27). Endotelial proliferasyon, anjiogenez ve KBB geçirgenliğinde geçici artış erişkin beyninde artmış metabolik ihtiyaca ya da travmaya yanıt olarak adaptasyon amaçlı görülebilir (28-29). VEGF ailesinden olan VEGF-A en potent anjiogenik

aktiviteye sahip olup beyin dokusunda baskın olarak bulunur. VEGF önceleri en çok endotelial hücre spesifik growth faktör olarak bilinse de, şimdiki deliller VEGF ün aynı zamanda nöral hücreler üzerine direkt etkilerini ortaya çıkarmıştır (30). VEGF vaskulogenez ve gelişme boyunca yeni kapillerlerin oluşması için şarttır. VEGF endotelial hücreler üzerinde güçlü mitojenik etkiye sahiptir, endotelial tight junction ve MMP düzeyini etkileyerek KBB permeabilitesini artırır.

Dorsal kök gangliyonlarının kültüründe VEGF aksonal büyümeyi uyarır ve satellit hücre ve nöronların sağ kalma şansını artırır. VEGF aynı zamanda SSS deki nöronların kültürlerinde nörotrofik etkilere sahiptir ki bu etkiyi VEGFR-2, fosfotidilinozitol 3 kinaz (PI3- kinaz) ve protein kinaz B reseptörleri üzerinden yapar. Ventral mezensefalon çalışmalarında VEGF'ün astrositler ve dopaminerjik nöronların hayatta kalmasını ve büyümesini desteklediği gösterilmiştir (31-32). VEGF invitro ve invivo çalışmalarda nörogenezisi stimule eder. Örneğin; serebral kortikal kültürlerde, VEGF nöronal prekürsörlerin proliferasyonunu stimule eder (33). VEGF aynı zamanda akut spinal kord ve serebral iskemide nöron ölümünü etkiler ve aynı zamanda diabetik ve iskemik nöropati, sinir rejenerasyonu, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı (AH) ve Multipl skleroz (MS) gibi nörolojik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir (30).

2.2. PARKİNSON HASTALIĞI

2.2.1. TANIM VE SINIFLANDIRMA

Parkinsonizmin en sık görülen biçimi olan Parkinson hastalığı ilk olarak 1817 yılında James Parkinson tarafından tanımlanmıştır. Ondokuzuncu yüzyılda yaşamış bir İngiliz hekimi olan James Parkinson “Shaking Palsy” (Titrek felç) isimli makalesinde bu hastalığı tanımlayan ilk kişidir ve hastalığa “Paralysis Ajitans” adını vermiştir. Fransız hekim Jean Marie Charcot Parkinson'un orijinal tanımına kas rijiditesi, mikrografi, duysal değişiklikler gibi birçok özelliği eklemiş ve hastalığa onu tanımlayan ilk kişinin adını vermiştir (1). 1919 yılında Tretiakoff ve arkadaşları hastalıkla ilişkili olarak substantia nigrada dopaminerjik nöronların kaybını

açıklamıştır. 1960 da Ehringer ve Hornykiewicz Parkinson hastalarının sitriyatumunda dopamin eksikliğini bildirmiştir. 1967 ve da Cotzias ve arkadaşları L-Dopanin Parkinson hastalığında klinik kullanıma girmesini sağlamışlardır(34).

Parkinsonizm altı kardinal bulgunun kombinasyonu şeklinde ortaya çıkan bir sendromdur. İstirahat tremoru, rijidite, bradikinezi, postural refleks kaybı, fleksiyon postürü ve donma ile karakterizedir. Parkinson Hastalığı parkinsonizmin en yaygın görülen klinik örneği olup, idiyopatik Parkinsonizm olarak da adlandırılır. Sinsi başlangıçlı, yavaş ilerleyen progresif nörodejeneratif bir hastalıktır (35).

Parkinsonizm tablolarını genel olarak dört sınıfta ele almak mümkündür (36)

I- Primer (İdiyopatik) Parkinsonizm

- Parkinson Hastalığı
- Jüvenil Parkinsonizm

II- Sekonder (Edinsel, semptomatik) Parkinsonizm

- İnfeksiyöz: Postensefalitik, yavaş virüs enfeksiyonu, AIDS
- İlaçlar: Dopamin reseptör blokerleri (Antipsikotikler, antiemetikler), rezerpin, tetrabenazin, alfa metil dopa, lityum, flunarizin
- Toksinler: MPTP (1-metil-4-fenil 1, 2, 3, 6 tetrahidropiridin), CO (karbonmonoksit), Mn (manganez), Hg (civa), CS₂ (karbon disülfür), metanol, etanol
- Vasküler: Multienfarkt demans, Binswanger Hastalığı
- Travma: Boksör ensefalopatisi
- Hipoksi
- Metabolik: Paratiroid hastalıkları, Hipotiroidi, Hepatoserebral dejenerasyon

- Diğer: Beyin tümörleri, Normal basıncılı hidrosefali, siringomezensefali

III- Heredodejeneratif Parkinsonizm

- Huntington Hastalığı
- Wilson Hastalığı
- Haller Vorden- Spatz Hastalığı
- Familyal Olivopontoserebellar atrofi
- Familyal Bazal gangliyon kalsifikasyonu (Fahr Hastalığı)
- Seroid-lipofuksinoz
- Gerstmann-Straussler-Scheinker Hastalığı
- Machodo-Joseph Hastalığı
- Periferik nöropatili ailesel parkinsonizm
- Nroakantositozis
- Lubag (Filipino X'e bağlı distoni ve parkinsonizm tablosu)
- Striatal nekrozlu mitokondrial sitopatiler

IV- Parkinson Plus Sendromlar

- Progresif supranükleer paralizi (PSP)
- Kortikobazal dejenerasyon (KBD)
- Multisistem Atrofiler (MSA)

Shy-Drager sendromu (SDS/MSA-A)

Striatonigral dejenarasyon (SND/MSA-P)

Sporadik olivopontoserebellar atrofi (OPCA/MSA-C)

- Guam'ın parkinsonizm-demans-ALS kompleksi (PDACG)
- Parkinsonizm-primer demans kompleksi
- Progresif pallidal atrofi – pallidonigral dejenerasyon
- Pallidopiramidal hastalık

2.2.2. EPİDEMİYOLOJİ

Parkinson hastalığı nörodejeneratif hastalıklar içinde Alzheimer hastalığından sonra ikinci sıklıkta görülen ve yaşlanmayla birlikte görülme sıklığı artan bir hastalıktır (37). Parkinson hastalığına yaşam boyu yakalanma riski kadınlarda %1,3 ve erkeklerde %2 olarak bildirilmiştir (38). Erkeklerde 1.2-1.5 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (39). Erkek egemenliği için kesin bir açıklama yoktur. Toksinlere maruziyet, kafa travması, östrojen, mitokondriyel işlev bozukluğu veya genetik nedenler suçlanmaktadır (40). Parkinson hastalığının yıllık insidansının 4,5–21/100.000 arasında değiştiği bilinmektedir (41,42). Hastalığın prevalansı 65–90 yaşları arasında artmaktadır. Hastalığın prevalans değerleri değişkenlik göstermekle birlikte yapılan çalışmalarda 80,6–187/100.000 olarak bildirilmiştir. Hastalık daha genç yaşlarda başlayabilir ve hastaların %5'inde 40 yaşından önce başlama öyküsü vardır (43).

Tüm ülkeler, tüm etnik gruplar ve tüm sosyoekonomik sınıflarda görülür ancak Afrikalı Amerikalılarda insidansı beyazların dörtte biridir. Asyalılarda insidansı beyazların üçte biri ile yarısı arasındadır. Kuzey Amerikalılarda daha sık görüldüğü tespit edilmiştir (44). Tanıdan ölüme kadar ortalama yaşam süresi 15 yıl olarak bildirilmiştir. Kesin ölüm nedenini çoğu hastada belirlemek oldukça zor olsa da belgelenmiş en sık ölüm nedeni pnömonidir (45).

2.2.3 ETYOLOJİ

Parkinson Hastalığı'nın etyolojisi henüz net olarak belirlenebilmiş değildir. Son zamanlarda gerçekleştirilen birçok klinik araştırma, PH'da çevresel faktörlerin yanı sıra kalıtsal özelliklerin de önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir. Genetik ve biyokimyasal veriler ışığında genetik ve/veya çevresel nedenlerle hasara uğrayan ubiquitin-proteozom sisteminin PH'nın patogenezinin sorumlu ana mekanizma olduğu düşünülmektedir (45).

Yaşlanma

Parkinson Hastalığı, 40 yaşından önce ender olmasına rağmen 50 yaştan sonra insidanda giderek artma görülür (46). 40 yaşın altında başlayan olgular erken başlangıçlı PH, 20 yaşından önce başlayan olgular juvenil PH olarak tanımlanır. Juvenil parkinsonizmde farklı bir nigral dejenerasyon örüntüsü vardır ve genellikle kalıtsaldır (47). İlerleyen yaşla PH'nın artan prevalansı arasında görülen korelasyon için olası açıklamalar, nöronal zayıflamanın yaşla ilgisini ve zaman dilimine bağlı bir etyolojik mekanizmanın varlığını kapsamaktadır (48).

Parkinson Hastalığı için karakteristik histolojik bulgu olan Lewy Cismi (LC) parkinsonizm bulgusu olmayan, yaşlanmakta olan kişilerde de görülmüş ve bu bulgu, yeterince yaşarlarsa bu kişilerin de hastalığa yakalanabileceklerinin habercisi olarak kabul edilmiştir. Ayrıca yaşla birlikte nigral hücre sayısında azalma (80 yaşında 425.000'den 200.000'e düştüğü gösterilmiştir) tespit edilmiştir. Ek olarak PH'nda substantia nigradaki pigmentli nöronların toplam sayısının, yaşa göre eşleştirilmiş kontrollerdekinin %31'ine düştüğü bulunmuştur (45,48).

Parkinson Hastalığı'nın patolojik süreci temel olarak substantia nigra pars kompaktasının hafif pigmentli ventrointermediat ve ventrolateral nöronlarında ortaya çıkarken, yaşla birlikte görülen nigral harabiyet sıklıkla melanin içeriğinin nispeten daha yoğun olduğu arka sırada ve pars lateraliste gözlenir. Buradan anlaşılacağı gibi normal yaşlanmada PH'nda görülene göre daha yavaş ve ters tarafta nöron kaybı ortaya çıkmaktadır (49).

Genetik

Birçok çalışma ile PH hastalarının birinci derece akrabalarında PH gelişme riskinin 2-3 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Yine yapılan ikiz çalışmalarında, nigrostriatal dopaminerjik sistemlerdeki subklinik işlev bozukluğunun saptanmasını sağlayan pozitron emisyon tomografisi (PET) kullanıldığında (Monozigotların %75'inde striatal disfonksiyon tespit edilmişken bu oran dizigotlarda çok daha düşük bulunmuştur) daha belirgin ilişki kurulmakla beraber vaka analiz yöntemleriyle de tespit edilen yatkınlık ortaya konulmuştur (45,49).

Parkinson Hastalığı'nda yaklaşık %10 oranında ailesel geçiş gösterilmiş ve birkaç spesifik gen mutasyonu tanımlanmıştır. α -sinüklein geni (PARK1), parkin geni (PARK2), ubiquitin karboksi-terminal hidrolaz (UCH-L1) geni (PARK5), PINK1 (PARK6), DJ1 (PARK7), LRRK2 (PARK8), Nurr 1, OMG/HtrA2 ve ATP13A2 gibi genlerdeki defekt veya disfonksiyonun ailesel PH ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (50). α -sinüklein geni, parkin geni ve UCH-L1 nörodejenerasyona öncülük eden yanlış katlanmış proteinlerin ayrıştırılmasında yetersizliğe yol açar (51). α -sinüklein geninde A53T ve A30P olmak üzere iki farklı gen mutasyonu tanımlanmışken, parkin geninde birçok mutasyon saptanmıştır. α -sinüklein ve UCHL-1 gen mutasyonları erken başlangıçlı sporadik PH ile ilişkiliyken, LRRK2 mutasyonu genellikle benign tremor baskın hastalık oluşturur (52,53).

Çevre

Genç narkotik bağımlılarında, MPTP (1-metil-4-fenil 1, 2, 3, 6 tetrahidropiridin) içeren sentetik eroinin intravenöz enjeksiyonu ile ortaya çıkan toksik parkinsonizm olguları, bazı durumlarda eksojen ajanlara maruz kalmanın, PH'na yol açabileceğini düşündürmüştür. MPTP'ye bağlı parkinsonizmin çarpıcı özelliği, daha yaygın santral sinir sistemi harabiyeti yapması beklenirken, tamamen PH'nın anatomik ve klinik özelliklerini göstermesidir (54). Diğer eksojen nörotoksinler, eser elementler, siyanid, vernik incelticileri, organik solventler, karbonmonoksit, karbondisülfid, hidrojen sülfid ve nitrik oksiddir (46). Hastalığa yol açabilecek çevresel faktörler,

kırsal alanda yaşama, kuyu suyu içme, tarım böceklerinin ilaçlanması olarak sıralanmaktadır. Betakarbolinler ve tetrahidroizokuinolinler gibi toksinler dopamin hücre ölümüne yol açarak hastalığa neden olabilirler (46). Pasifik'teki Guam ve Rota adalarındaki Kamorro toplumunda görülen Parkinson hastalığı- demans- amiyotrofik lateral skleroz kompleksinin büyük olasılıkla bölgede tüketilen sikaed unu ile bağlantılı olabileceği düşünülmüştür (49).

2.2.4. PARKINSON HASTALIĞININ NÖROPATOLOJİSİ

Parkinson Hastalığı için bütünüyle güvenilir bir klinik gösterge bulunmaması, klinik özelliklerin ya da bunların kombinasyonlarının tanısız yararını değerlendirmede nöropatolojik doğrulamayı zorunlu kılmaktadır (55).

Klasik olarak, PH'na özgü nöropatolojik özellikler göreceli olarak belirgindir. Substantia nigra pars kompaktadaki melanin içeren dopaminerjik hücrelerin kaybı ve kalan hücrelerin içinde de Lewy cisimciği (LC) olarak adlandırılan, ağırlıklı olarak "ubiquitin" denen bir protein içeren küresel inklüzyon cisimciklerinin varlığı tanımlayıcı sayılır (56,57).

Parkinson Hastalığı'nın patolojik belirleyicisi olan LC, ilk kez 1912 yılında F. H. Lewy tarafından Parkinson hastalarının beyin sapında, substantia nigranın nöromelanin içeren nöronlarının sitoplazmasında yer alan küre biçiminde periferik haleli eozinofilik sitoplazmik inklüzyonlar olarak tanımlanmıştır ve bunlar PH'nın patolojik imzası olarak kabul edilmiştir (44, 48, 49). Çoğu zaman lokus seruleus, Meynert'in bazal çekirdeği, vagusun dorsal motor çekirdeği, hipotalamus ve başka bazı eğilimli bölgelerde de LC vardır. Tipik klinik özelliklerle birlikte bu patolojik bulguların gözlemlendiği hastalarda tanı nettir. Bununla birlikte, bazen nöropatolojik bulgular bu denli açık değildir ve karışıklığa neden olmaktadır. Ayrıca tek tek patolojik özelliklerin özgüllüğü ve duyarlılığı iyi bilinmemektedir. Örneğin bazı hastalarda tipik klinik özellikler ve substantia nigrada nöron kaybı bulunmasına karşın, LC yoktur. Tersine, bazı hastalarda nöronal dejenerasyon, hatta klinik anormallikler bulunmaksızın LC bulunur. Yaşla birlikte nigral hücrelerin normal

olarak azalması ve 80 yaşında maksimum değeri olan 425.000'den 200.000'e düşmesi, yaşla birlikte asemptomatik bireylerin beyinlerinde LC bulunma insidansının artması, Lewy cisimciğinin presemptomatik PH göstergesi mi, yoksa normal yaşlanma ile ilgili bir özellik mi olduğu sorusunu doğurmaktadır (44,48,49,57,58).

Lewy Cisimciği, Alzheimer hastalığı (AH), motor nöron hastalığı, subakut sklerozan panensefalit, ataksik telenjiyektazi, kortikobazal dejenerasyon ve Hallervorden-Spatz hastalığı bulunan bireylerin %10-40'ında görülmekte, bu da Lewy cisimciğinin altta yatan özgül fizyopatolojik mekanizmayı temsil etmeyebileceğini düşündürmektedir. Lewy cisimciğinin dağılımının da önemi iyi anlaşılammıştır. Bazı bildirimlerde, PH hastalarının tümünde ya da tümüne yakınında neokortekste LC bulunduğu bildirilmektedir. Bunun gibi LC bulunan PH'nın çoğunda AH'na özgü patolojik bulgular da (nöritik plaklar ve nörofibriler yumaklar) vardır (48,49,59-61).

Parkinson Hastalığı tanısı için herkes tarafından kabul edilen histopatolojik ölçütler bulunmamaktadır. Tablo 1'de sunulan ölçütler, yayınlanmış klinik-patolojik serilerde kullanılan tipik ölçütlere uygundur (62).

Tablo1: Parkinson Hastalığı'nın histopatolojik doğrulaması için önerilen ölçütler

1. Substansiya nigra da önemli boyutlarda sinir hücresi kaybı ve buna eşlik eden gliozis
2. Substansiya nigra ya da lokus seruleusta en az bir Lewy cisimciği
3. Parkinsonizme yol açan diğer hastalıklara ilişkin patolojik bulgu olmaması (Örn; Progresif supranükleer paralizi, multisistem atrofi, kortikobazal dejenerasyon vb.)

2.2.5.PARKİNSON MEKANİZMALARI

HASTALIĞI'NIN

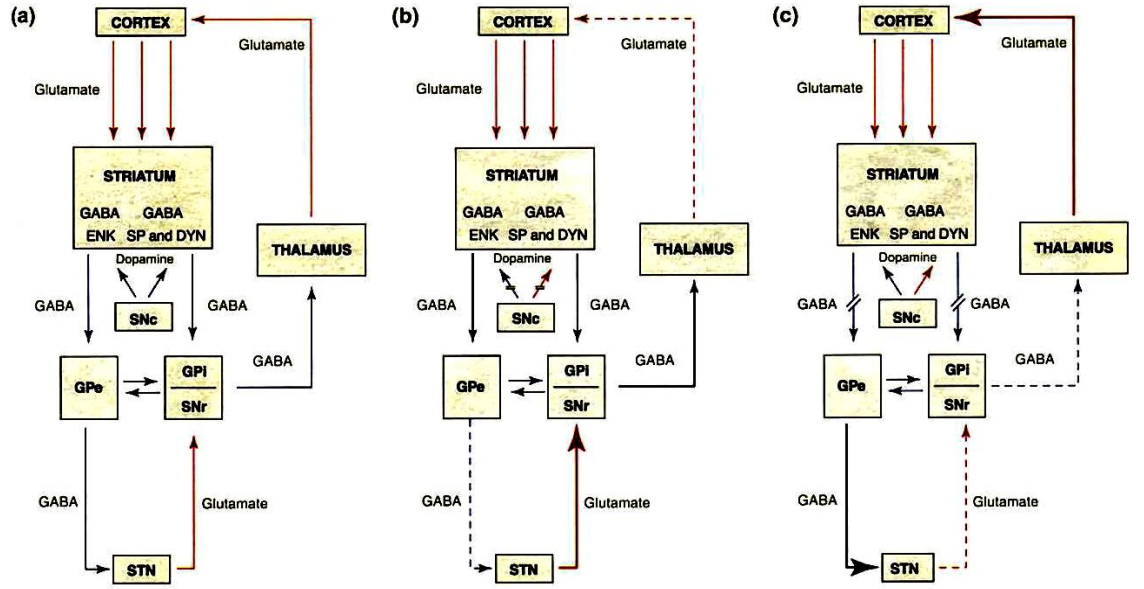
NÖROANATOMİK

Genellikle ekstrapiramidal sistem olarak adlandırılan, parkinsoniyen bozuklukların merkezi olan bazal ganglionlar, serebral hemisferin ventromedialinde yerleşmiş büyük bir çekirdek grubudur. Bazal ganglionların temel parçalarını striatum (kaudat nukleus ve putamen) ve globus pallidus (eksternus ve internus) oluşturur. Diğer iki subkortikal çekirdek, diensefelonda yer alan subtalamik nukleus ve mezensefelonda yer alan substantia nigra (pars kompakta ve pars retikülata) ile talamusun intralaminer nükleusları bazal gangliyonların spesifik kısımlarından olmadıkları halde, bu sistemle fonksiyonel ve anatomik olarak ilgilidirler (49).

Kaudat çekirdek ve putamenden oluşan striatum bazal ganglionların girdi bileşeni olarak işlev görür. Globus pallidus (İnternus ve eksternus) ise bazal ganglionların başlıca çıktı bileşenidir. Putamen ve globus pallidusun oluşturduğu mercek biçimindeki yapıya lentiform nükleus adı verilmektedir (49,63).

Substantia nigra, ventralde yer alan ve sitolojik olarak globus pallidusa benzeyen pars retikulata ile dorsalde yer alan ve nöromelanin içeren koyu pigmentli pars kompaktadan oluşmaktadır. İntratalamik nükleuslar serebral korteksten bazal ganglionlara doğru ve ters yönde giriş ve çıkış yollarını oluştururlar (49).

Bazal ganglionların ana görevi kontrol, ince ayar ve modülasyondur. İlgili işlevlerini yerine getirebilmek için kontrol edip, ince ayarını yapacağı bölgelerden bilgi almak (afferent uyarılar) ve o bölgelere bilgi vermek (efferent uyarılar) durumundadır. Bazal ganglionların afferent girdilerinin önemli bir kısmı frontal korteksten (motor korteks, premotor alan, suplamenter motor alan, singulat korteks, dorso-lateral ve orbitolateral frontal korteks) bir kısmı da parietal korteksten gelir. Bu afferent sinyaller bazal ganglionlara striatum (putamen, kaudat nükleus ve ventral striatum) üzerinden giriş yapar. Bazal ganglionlarda işlem gören bilgiler Globus pallidus internus (GPi) ve substantia nigra pars retikulata (SNr) üzerinden çıkış yapar. Bazal ganglionlarda işlem gören ve GPi ve SNr üzerinden çıkış yapan efferent sinyallerin çok büyük bir kısmı talamusa, küçük bir kısmı ise beyin sapındaki pedinkülopontin nukleusa giderler (49).



Basal ganglia, Parkinson's disease and levodopa therapy: TINS supplement

Şekil 1: Parkinson hastalığının nöroanatomik mekanizmaları

a) Bazal gangliyonların normal işleyiş mekanizmaları, b) SNc'deki dopaminerjik çıkışların kesintiye uğraması, c) Striatal GABAerjik nöronların hasarı

Serebral korteks ve bazal gangliyonlar arasında korteksin aktivitesini artıran direkt ve korteksin aktivitesini inhibe eden indirekt olmak üzere iki yol vardır. Frontal korteksten (motor korteks, premotor alan, suplamenter motor alan, singulat korteks, dorso-lateral ve orbitolateral frontal korteks) ve parietal korteksten gelen bazal gangliyonların afferent girdileri direkt yolda, putamene girdikten sonra bazal gangliyonlar içindeki diğer yollara uğramadan doğrudan GPi ve SNr'e yönelirler ve talamus üzerinden kortekse geri dönerler. İndirekt yolda ise korteksten putamene giren sinyaller globus pallidus eksternus (GPe), subtalamik nukleus (STN) ara istasyonlarından geçtikten sonra çıkış kapısına, yani GPi ve SNr'e yönelirler ve talamus üzerinden kortekse geri dönerler. Nöropeptid olarak tachykinin (Substans P ve dinorfin) içeren direkt yol gabaerjiktir (bastırıcı, inhibe edici) ve hücre gövdelerinde esas olarak D1 reseptörü bulunmaktadır. Substantia nigra ve globus pallidusun internal segmentini innerve eder. İndirekt yolda gabaerjiktir ve nöropeptid olarak enkefalinleri içerir. Hücre gövdelerinde D2 reseptörlerini bulundurlar ve globus pallidusun eksternal segmentini innerve ederler. Dopamin D1 tipindeki reseptörlere bağlandığında uyarıcı, D2 tipindeki reseptörlere bağlandığında ise inhibe

edici etki yapar. Sonuç olarak dopamin, direkt yolu uyarıp indirekt yolu baskılayarak talamokortikal çıkış sinyallerini her iki yolda arttırır ve korteks aktive olur. Normalde bu iki yol dengededir. Parkinson hastalığında dopamin azalması sonucunda bu denge indirekt yolun lehine bozulur. Sonuçta talamus üzerine indirekt yolun artmış etkisi ortaya çıkar. Bazal gangliyonlardan talamusa çıkışın artması sonucunda kortikal aktivasyonda azalma olur. Bu, parkinsoniyen belirtilerin çoğunun oluşmasından sorumludur (49,63-65) (Şekil 1).

2.2.6. PARKİNSON HASTALIĞININ KLİNİK ÖZELLİKLERİ

Parkinson hastalığı, asıl olarak hareket hastalığı olmasına rağmen sıklıkla psikotik, affektif ve kognitif bozuklukların da eşlik etmesi sebebiyle nöropsikiyatrik bir hastalık olarak da kabul edilen nörodejeneratif bir hastalıktır. Depresyon, seboreik dermatit, olfaktör bozukluk, kabızlık, mesane işlev bozuklukları, ağız salgısında artma, erektil bozukluk, terlemede artma, ortostatik hipotansiyon motor semptomlardan yıllar önce başlayabilir (66).

Parkinson hastalığının istirahat tremoru, rijidite, bradikinezi ve postural reflekslerde bozulmayla karakterize dört ana bulgusu vardır. Belirtiler sinsi ve asimetric olarak başlayıp yavaş yavaş ilerler (67). Aile bireyleri tarafından hastanın daha asik suratlı olduğu, yürürken bir kolunun diğerine göre daha az salındığı, konuşmasında monotonlaşma olduğu farkedilebilir. Bu bulgular doktorlar tarafından yaşlılık, mutsuzluk, içe kapanma veya romatizma olarak değerlendirilebileceğinden tanı genellikle 2-3 yıl gecikebilir (68).

Parkinson Hastalığı Ana Bulguları:

Tremor

Parkinson hastalığının en yaygın başlangıç belirtisi asimetric başlangıçlı istirahat tremorudur (69). Parkinson hastalığının en iyi tanımlanan ve en spesifik

bulgusudur. Çoğu hastada en sık başvuru nedenidir. Olguların %50-75'inde ilk motor semptom olarak istirahat tremoru ortaya çıkar (70). Sıklıkla üst ekstremiteler distalinden tek taraflı olarak başlar. Bazı hastalarda sadece tek bir parmağı etkileyebilir. Sıklıkla işaret ve başparmağın ritmik, alternan oppozisyonu ile şekillenen stereotipik para sayma hareketidir. Yıllar içinde tremor ekstremitelerin proksimaline yayılım gösterir ve aynı taraf bacak ile karşı taraf ekstremiteleri de tutar (26,71). Hastaların %15'inde hastalığın hiçbir döneminde tremor gözlenmez (31).

Parkinson Hastalığı'nın tremorunun tipik frekansı 3-7 Hz arasında olup, sıklıkla 4-5 Hz düzeyinde seyredir. Tremorun şiddeti ani dalgalanmalar gösterir, yürüme ve heyecanla artar, ancak tremor frekansı sabit kalır (44,71). Hastaların %40-60'ında daha hızlı frekanslı (5-8 Hz) postural-kinetik tremor tabloya eşlik eder. Hastalığın ilk bulgusu esansiyel tremora benzer şekilde postural tremor olabilir. Burada görülen postural tremorun ayırt edici özelliği kolların ileriye uzatılması ile tremorun ortaya çıkması arasında saniyeler ile bir dakikaya kadar süren bir latent evrenin olmasıdır (72).

Tremor stress ile mental aktivite sırasında (örneğin bir aritmetik işlevi yaparken), yürürken, diğer ekstremitenin motor hareketi sırasında artar. O ekstremitenin harekete başlamasıyla, REM uykusuna dalındığında kaybolur ama hafif uykuda ve uyanıldığında tekrar belirir (44,73,74).

Rijidite

Rijidite; ekstremiteler, boyun veya gövdenin pasif hareketi sırasında her yöne ve tüm hareket genliği boyunca hissedilen, agonist ve antagonist kaslarda eş zamanlı olarak tonusun artmasına bağlı olarak saptanan dirençtir. Tremora oranla daha az sıklıkla görülür. Hastalığın ileri aşamalarında ortaya çıkma eğilimindedir (44). Klinik çalışmalara göre hastaların %89-99'unda gözlenir. Hafif olgularda kontralateral ekstremitelere istemli tekrarlayıcı hareketler yaptırarak rijiditeyi ön plana çıkarmak için mümkündür (Froment manevrası). Zaman zaman ağrı ve rahatsızlığa yol açan rijidite, ağrılı omuz, rotator cuff sendromu, artrit ve bursit tanılarını alarak gözden kaçabilir (74).

Rijidite sıklıkla el bileğinde pasif rotasyon hareketleri ve dirsekte fleksiyon ve ekstansiyon hareketleri ile değerlendirilir. Hastalığın ileri evrelerinde rijiditeye bağlı boyunda, gövdede, dirseklerde ve dizlerde fleksiyon postürü ortaya çıkabilir. Torakolomber omurganın aşırı fleksiyonu olan kamptokormi yürümekle artar, sırt üstü yatmakla azalır. Ulnar deviasyon, proksimal ve distal interfalangeal eklemlerde ekstansiyon ile metakarpofalangeal eklemlerde fleksiyonla karakterize striatal el, topuk ekstansiyonu ya da fleksiyonu ile karakterize striatal ayak gözlenebilir (75,76).

Akinezi/ Bradikinezi

Bradikinezi, ardısıra ve eş zamanlı hareketleri planlanma, başlatma ve yürütmede zorlanma olarak tanımlanır. Günlük yaşam aktivitelerinin yavaşlaması, hareketlerin yavaşlığı ve reaksiyon zamanının uzaması olarak ortaya çıkabilir (49). Başlangıçta distal grup kaslarda kısıtlılık (mikrografi, parmak hareketlerinde kısıtlılık) varken zamanla tüm kas grupları etkilenir. Elin alternan supinasyon-pronasyon hareketi gibi ardı sıra yapılması gerekli motor işlevler ve düğme iliklemek gibi kompleks işlevler yerine getirilemez (44,71).

Bradikinezinin manifestasyonları arasında mimik hareketlerinin ortadan kalkması ve göz kırpmının azalmasıyla yüzün ifadesiz görünüm alması (maske yüz, bradimimi), monoton, alçak sesle, hipofonik konuşma (hipokinetik dizartri), spontan yutma işlevinin azalmasına bağlı ağızda salya birikimi ve akması (siyalore), yürüme sırasında otomatik kol hareketlerinin azalması veya kaybolması (assosiye hareketlerin kaybı) sayılabilir. Bradikinezi de diğer parkinsoniyen bulgular gibi hastanın emosyonel durumu ile bağlantılıdır. Bunun en önemli görüntüsü paradoksal hiperkinezi (paradoksal kinezi) adı verilen fenomendir. Ani emosyonel enerji dalgasıyla hareketsiz bir hasta bir topu yakalayabilir ya da hız gerektiren başka bir işi yapabilir (75).

Bradikinezinin patofizyolojisi net olarak bilinmese de azalmış dopaminerjik fonksiyon sonucu gelişen normal motor korteks aktivitesindeki kesintiye bağlı olduğu düşünülmektedir. Tremor, genç hastalarda daha baskın bulgu iken, bradikinezi yaşlı hastalarda öne çıkan bulgudur (74,76,77).

Postural İnstabilite

Postural refleksler dik durmamızı ve postürümüzü sürdürürken dengemizi korumamızı, dönüşlerde veya yürüyüş sırasında yön değiştirirken dengemizi kaybetmememizi sağlar. Postural reflekslerin kaybına bağlı olarak gelişen postural instabilite, PH'nın en az spesifik, en fazla özürülük yaratan ve tedaviye en az yanıt veren ana bulgusudur (71,72).

James Parkinson tarafından 'daha küçük ve çabuk (aceleci) adımlar atmak için dayanılmaz bir istek (çekim) duymak ve bu suretle istem dışı bir şekilde koşma hızını benimsemek' olarak tanımlanmıştır (73).

Hastalarda kol fleksiyonu ile başlayan, gövde ve boyun fleksiyonu ile devam eden öne eğik bir postür gelişir. Zamanla propulsiyon (öne düşme eğilimi) ya da retropulsiyon (arkaya düşme eğilimi) ile bağlantılı denge kaybı gelişir. Bu bulgular sıklıkla hastalığın geç evrelerinde ortaya çıkar (71).

Postural instabilitenin derecesini değerlendirmek için 'çekme (pull) testi' kullanılır. Bu test ile hastanın omuzlarına uygulanan ani bir çekmeye verdiği postural yanıt değerlendirilir. Normalde hasta bir veya iki adım geriye gelmeli ve durmalıdır. Postural refleksleri azalmış bir hasta sandalyeye oturma girişiminde aniden, kontrolsüz bir biçimde sandalyeye çöker. Bu belirtiyeye de 'sitting en bloc' adı verilir. Postural instabilitesi olan hastalarda, özellikle gövdede fleksiyon postürü varlığında, 'festination'' şeklinde giderek hızlanan bir yürüyüş ortaya çıkar. Bu arada hasta adeta düşmemek için ağırlık merkezini yakalamaya çalışır şekilde yürür ve durmakta güçlük çeker (75). Postural instabilite dopaminerjik tedaviye en dirençli klinik bulgudur.

Parkinson Hastalığı tanısı için değişik tanı kriterleri geliştirilmiştir. Bunlar arasında en sık kullanılan Hughes ve arkadaşlarının 1992 yılında yayınladıkları tanı kriterleridir. Bu kriterlere göre tanı 3 basamaktan oluşmaktadır (79) (Tablo 2).

Tablo 2: Parkinson Hastalığı'nın klinik tanısı

1- Parkinsoniyen sendromun tanısı:

- Bradikinezi
- Aşağıdakilerden en az birinin bulunması
 - ✓ 4-6 Hz istirahat tremoru
 - ✓ Rijidite
 - ✓ Vizüel, vestibuler, serebellar veya proprioseptif fonksiyon bozukluğunun neden olmadığı postural instabilite

2- Parkinson Hastalığı için dışlama kriterleri

- Tekrarlayan inme öyküsü (Basamaklı gidiş)
- Tekrarlayan kafa travması öyküsü
- Kesin ensefalit öyküsü
- Okülojirik kriz
- Semptomların başlangıcında nöroleptik kullanımı
- Birden fazla aile bireyinde benzer hastalık
- Spontan remisyon
- İlk 3 yıldan sonra sadece unilateral tutuluşun varlığı
- Supranükleer bakış paralizileri
- Serebellar bulgular
- Erken ve şiddetli otonomik yetmezlik

- Erken ve şiddetli demans
- Yüksek doz levodopaya kötü yanıt
- Bilgisayarlı tomografide tümör ve kommunikan hidrosefalinin varlığı

3- Parkinson Hastalığı için destekleyici kriterler

- Aşağıdakilerden en az üçünün bulunması
 - ✓ Unilateral başlangıç
 - ✓ Progresif seyirli olması
 - ✓ Hastalığın başladığı tarafta bulguların asimetric olarak daha belirgin devam etmesi
 - ✓ Levodopaya çok iyi (%70-100) yanıt olması
 - ✓ En az 5 sene veya daha fazla levodopaya yanıtın devam etmesi
 - ✓ Levodopaya bağlı diskinezilerin ağır olması
 - ✓ Klinik seyirin 10 yıl ya da daha fazla devam etmesi

Parkinson hastalığında motor semptomların dışında depresyon, demans, anksiyete, psikoz, uyku bozuklukları, otonomik disfonksiyon ve seksuel disfonksiyon da yaygındır. Uyku bozuklukları PH'lı hastaların %70'inden fazlasında görülür. Bu non-motor semptomlar motor semptomların öncesinde de gelişebilir (80).

2.2.7.PARKİNSON HASTALIĞI'NIN TEDAVİSİ

Parkinson Hastalığı'nın medikal ve cerrahi tedavisi 3 ana kavramsal kategoriye ayrılabilir:

Semptomatik: Hastalığın bulgu ve belirtilerini iyileştirmek için

Koruyucu: Hastalığın fizyopatolojik mekanizmasını engellemek için

Onarıcı: Yeni nöronlar kazandırmak ya da kalan hücrelerin büyümesini ve işlevini uyarmak için (81).

Medikal Tedavi:

Levodopa:

Levodopa dopaminin kendisinden hemen önceki metabolik öncülüdür. Doyurulabilir, kolaylaştırılmış bir taşıyıcı sistemle bağırsak duvarından taşınabilir (82). Periferde L-Dopa'nın % 95 den fazlası hızla dopamine dekarboksile edilir, kalan kısmın da % 1'i kan beyin bariyerini geçerek strial dokuya ulaşabilir. Bu nedenle L-dopa periferik dopa dekarboksilaz inhibitörü olan karbidopa veya benserazide ile kombine verilir. Bu kombinasyon sayesinde L-dopa dozu % 80 azaltılabilir. Bunun önemi ise vasküler endotelde büyük dozların dopamine dönüştürülmesinin ardından görülen bulantı-kusma, hipotansiyon, sinüs taşikardisi, portakal renkli idrar gibi yan etkiler ortaya çıkmaz (83). L-Dopa kognitif bozukluk, konfüzyon, psikoz gibi nöropsikiyatrik yan etkilere neden olabileceği gibi, uzun süre kullanımında striatal dopaminerjik nöronlardan fizyolojik olmayan pulsatil stimülasyona bağlı gelişen motor fluktuasyonlar ve diskinezi gibi motor komplikasyonlara yol açabilir.

L-Dopanın en sık görülen yan etkileri: (49)

- Koreiform, distonik ve diğer istemsiz hareketler
- Paronoid fikirler ve psikotik atakları içeren ruhsal değişiklikler
- Bulantı-kusma
- Kardiyak düzensizlikler
- Ortostatik hipotansiyon
- On-Off fenomeni
- İştahsızlık

Katekol-O-Metiltransferaz (KOMT) İnhibitörleri:

L-Dopa'ya ek olarak kullanılan KOMT inhibitörleri; Tolkapon ve entekapondur. Hem erken evredeki ve hafif parkinson hastalığında hemde L- dopayla ilişkili motor dalgalanmalarla komplike olmuş ileri evredeki parkinson hastalığında L-dopaya yardımcıdır. Off süresini anlamlı ölçüde azaltır, on süresini artırır, L-dopa gereksinimini azaltır. Ortamdaki dopamini artıran diğer ilaçlar gibi diskinezileri artırır. Bu durumda L- dopa dozu azaltılırsa diskinezi sıklığı ve şiddeti azalır (84).

Dopamin Reseptör Agonistleri:

Bromokriptin, Kabergolin, Pergolid, Lizurid ergo türevi; Ropinirol, Pramipeksol, Piribedil, Rotigotin ise non-ergot dopamin agonistlerdir. Amerikan Nöroloji Akademisi, motor disabilitenin iyileştirilmesinde L- dopa kullanımını desteklerken, motor komplikasyon gelişimi riskini azaltmak amacıyla dopamin agonisti kullanımını önermektedir. Erken dönemde monoterapi olarak verilip özellikle genç hastalarda L- dopa ihtiyacını geciktirip motor fluktuasyon ve diskinezi gelişimini azaltırlar (85). Yan etkiler arasında bulantı, ödem, somnolans, konstipasyon, diziness ve halüsinasyon sayılabilir. Aynı zamanda aşırı gündüz uykululuğu, dürtü kontrol bozukluğuna (aşırı kumar oynama, alışveriş yapma, internet kullanımı vb. gibi) yol açabilir (85). Ergo türevi dopamin agonistleri kardiyak disfonksiyon ve valvular, pulmoner ya da retroperitoneal fibrozise yol açması nedeniyle uzun süre kullanılmazlar. Apomorfın; D1, D2 agonisti olup dalgalı seyir gösteren hastalarda pompa sistemi ile sürekli uygulanabilmektedir. Rotigotin ise yeni bir non-ergot dopamin agonisti olup transdermal kullanılabilen tek ajandır (85).

Monoaminoksidaz B (MAO-B) İnhibitörleri :

MAO-B inhibitörleri (Selejilin, Rasajilin), L- dopa'nın MAO-B enzimi ile yıkımını önleyerek etki gösterir. Erken dönemde kullanımının dizabiliteyi, L-Dopa ihtiyacını ve motor fluktuasyonu; ileri dönemde „donma“ fenomenini azalttığı gösterilmiştir (86). Günlük 1mg Rasajilin kullanımının nöroprotektif olduğu

düşünülmektedir. Safinamid, çalışmaları halen devam eden yeni bir MAO-B inhibitörüdür. Aynı zamanda dopamin uptake'ini ve glutamine salınımını inhibe edip, sodyum kanallarını bloke eden Safinamid'in yürütücü işlevleri düzelttiği düşünülmektedir (87). Yan etkileri arasında hipotansiyon, bulantı, konfüzyon, psikoz, ajitasyon, ağız kuruluğu, karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma, uykusuzluk, idrar retansiyonu, diskinezilerde kötüleşme sayılabilir. Selegilin serotoninerjik veya sempatomimetik ilaçlarla ve tiraminden zengin besinlerle etkileşebileceği unutulmamalıdır (88).

Amantadin:

Antiparkinsonyel etkisi de olan bir antiviral ilaçtır, kesin etki mekanizması bilinmemektedir.

Muhtemel etki mekanizmaları:

- Dopaminin merkezi nöronlardan salınması
- Nöronlar tarafından dopamin alımının geciktirilmesi
- NMDA reseptörlerinin blokajı
- Antikolinergik etkiler

Erken evredeki minör semptomlu hastalarda, monoterapi olarak verilirse, % 20- 40'lık bir düzelme sağlar. L-dopamin maksimum dozuna yaklaşmış ya da L-dopa dan daha az yarar gören hastalar, amantadinin kombine edilmesinden ek fayda görür, ayrıca diskinezileri de azaltır. Varsanılar, bacaklarda ödem, bacaklarda livedo retikularis gibi yan etkileri görülebilir(14).

Antikolinergikler:

Sıklıkla kullanılan antikolinergikler; Biperiden, Trihexifenidil, Benztropin ' dir. Parkinson hastalığında kolinerjik sistem görece korunmuştur, ancak dopaminde belirgin eksilme olduğundan striatumdaki Ach/ dopamin dengesi kolinerjik yollar lehine bozulur. Antikolinergik ilaçların tremor semptomlarına etkili olduğu

düşünülmektedir; rijidite ve bradikineziye fazlaca etkili değildir. Motor dalgalanmalarda L-Dopaya yardımcı olarak kullanılabilir (87).

Ağız kuruluğu, dar açılı glokom, kabızlık, idrar retansiyonu, bellek bozukluğu, konfüzyon gibi yan etkiler görülebilir. Yaşlılarda mutlak antikolinergik kullanılacaksa çok dikkat edilmelidir. Çünkü teropatik indeksleri dardır ve toksisteleri yüksektir (49).

Cerrahi Tedavi:

Cerrahi tedavinin amacı, hastanın fonksiyonel kapasitesinde artış sağlanmasıdır. Bu amaçla hastaya ablasyon cerrahisi ya da derin beyin stimülasyonu yapılabilir.

Ablasyon cerrahisinin hedefi, talamusun duysal motor kısımları, ventral intermediyer çekirdeği, GPi ve GPe, STN'dur. Pallidotomi, medikal tedaviden yarar görmeyen şiddetli motor dalgalanması ve diskinezileri olan hastalarda; talamotomi, tek taraflı ya da belirgin düzeyde asimetric, medikal tedaviye yanıtızsız, şiddetli tremorda tercih edilir. Subtalamotomi ise hemiballismus ve kore riski taşıyan ancak geri dönüşümsüz distoni riski göreceli olarak düşük olan bir ablasyon yöntemidir. Ablasyon yöntemlerinin yan etkileri arasında bazal gangliyon yapılarında kanamaya bağlı ölüm ya da hemiparezi, çift görme, görme alanı kusurları, duyu kaybı ve dizartri sayılabilir (50).

Derin beyin stimülasyonu (DBS), ablatif cerrahinin uygun olmadığı hastalarda yapılabilmesi ve iki yanlı girişimlerin beyinde yıkıcı bir hasardan kaçınılması açısından avantajlı bir yöntemdir. Stimülatör herhangi bir zamanda en uygun etki ve en az yan etki gösterecek şekilde ayarlanabilir. Tremor, ventral intermediyer çekirdeğin yüksek frekanslı stimülasyonu (YFS); L-Dopa'ya bağlı diskineziler, globus pallidus internus YFS'si; akinezi ve rijidite ise subtalamik çekirdeğin YFS'si ile kontrol altına alınabilir. Yan etkileri arasında hipotoni, blefarospazm ve güçlü depresif dönemler sayılabilir (50).

2.3. PARKINSON HASTALIĞINDA MOTOR KOMPLİKASYONLAR

Parkinson Hastalığı'na ait belirti ve bulgular hastalığın ilk dönemlerinde, L-dopa ve dopamin agonistleri ile tedaviye çok iyi yanıt verir. Ancak beş yıldan uzun süredir L-dopa tedavisi altında olan hastaların sadece % 25'i yeterli ve pürüzsüz yanıt vermeye devam eder. % 75 hastada ise motor komplikasyonlar ortaya çıkar (88). Bu motor komplikasyonlar arasında motor dalgalanmalar, doz sonu kötüleşmesi ("wearing off"), tepe dozu diskinezileri ve difazik diskineziler yer alır (89).

L- Dopa Dozuyla İlişkili Motor Dalgalanmalar: (90)

Motor dalgalanmaların başladığını gösteren ilk belirtiler:

- Sabah erken akinezi
- Uykunun sağladığı yararın kaybı
- Huzursuzluk yada kıpır kıpır olma (maksimum doza bağlı korenin erken evre bulguları)
- Doz sonu örüntüsü olarak iç titremesi

L-dopayla ilişkili motor dalgalanmalar için olası mekanizmalar aşağıda belirtilmiştir (90).

Periferik farmokokinetik:

- Gastrik boşalmada gecikme
- Protein yarışması

Merkezi farmakokinetik:

- Strial L-dopa düzeylerinde değişiklikler (depolanmada azalma)
- Dopamin metabolizmasının toksik yan ürünleriyle dopaminerjik nöronların hasarlanması

Merkezi farmakodinamik:

- Dopamin reseptörlerinde değişiklik
- Dopamin reseptör duyarlılığı profilinde değişiklik

Yanıt azalması (Wearing - Off) dalgalanmaları:

Parkinson Hastalığı'nda görülen en sık motor dalgalanmalardır. Her L-dopa dozunun ardından yarar görülen sürenin kısalmasına denir. Nigrostriyal sistem dejenerasyonu ile bağlantılıdır. L-dopa alındıktan 2-4 saat sonra ortaya çıkar. Wearing off da motor bulgular dışında duysal, psikiyatrik, otonom dalgalanmalarda görülebilir. Parestezi, ağrı, taşikardi, terleme, kabızlık, geğirme, nefes darlığı olabilir. Eğer bunların wearing off semptomları olduğu bilinmezse gereksiz tanısal testler yapılabilir (18).

On - Off Dalgalanmalar:

On-off dalgalanmalar tedavinin yetersiz kaldığı durumlarla, gerekenden fazla olduğu durumlar arasında ani-öngörülmez geçişlerle karakterizedir. 'On' süresinde hasta rijidite, bradikinezi açısından ilacın sağladığı semptomatik yarardan faydalanır, 'off' döneminde ise ilacın semptomatik faydası kaybolur. Ani ve öngörülmez oldukları için tedavi güçtür. Dopamin agonisti, dopamin agonisti doz artırılması, dopamin dozu artırılması denenebilir. Ancak 'on' süresini arttıracak farmakolojik girişimlerin çoğu diskinezileride arttıracaktır. Anlatılan yöntemlerle fayda sağlanamamışsa, sıvı L-dopaya geçilebilir. Sıvı L-dopa daha tutarlı ve güvenilir bir titrasyon sağlar. Diskinezi gelişimi için risk faktörleri genç yaş, uzun hastalık süresi ve uzun süre levodopa kullanımıdır(51).

Diskineziler:

Diskineziler, anormal istem dışı hareketler olarak tanımlanmaktadır, koreik, distonik ve hatta ballistik tarzda olabilmektedir. Diskinezi oluşumu için ortam yaratan temel patoloji nigral hücre dejenerasyonuna bağlı dopaminerjik denervasyondur. Dejenerasyonun şiddeti, hangi dozda ve sürede L-dopa kullanımı sonucu diskinezilerin ortaya çıkacağını belirler (91). Dopaminerjik denervasyon altında diskinezilerin ortaya çıkışına neden olan etkenlerden birisi, L-dopa'nın plazma yarı ömrünün kısa oluşu ve gastrointestinal sistemden kararsız bir şekilde emilmesi sonucu plazma düzeylerinin dalgalanma göstermesidir (92). Bu durum hastalığın ilk evrelerinde sağlam olan dopaminerjik terminallerin L-dopa'yı depolayabilmeleri sayesinde sorun oluşturmazken, dejenerasyonun ilerlemesiyle birlikte L-dopa'nın etki süresi kısalır ve "pulsatilité" belirgin hale gelir (93). Normal fizyolojik koşullarda, striatal dopamin reseptörlerinin sürekli dopaminerjik uyarım altında olduğu göz önünde bulundurulacak olursa bu "pulsatilité"nin bazal gangliyonların çıktılarını etkileyerek diskinezi gelişimine neden olduğu düşünülebilir (75).

L-Dopaya bağlı diskinezi patogenezini inceleyen çalışmaların çoğu, L-dopa'nın dopamin üzerinden hedefi olan striatal dopamin reseptörlerindeki değişiklikler üzerinde yoğunlaşmıştır. Dopamin depleasyonu sonucunda D1-benzeri (D1 ve D5) ve D2-benzeri (D2, D3 ve D4) dopamin reseptörlerinin denervasyon süpersensitivitesine bağlı olarak artması ve kronik dopaminerjik tedavi sonrası tekrar azalmaları beklenmektedir (94). Ancak dopamin depleasyonu ile D1 reseptörlerinin sayıca değişmemekle birlikte uyarılabilirliklerinin arttığı ve LID şiddetinin D1 reseptörlerinin hücre içi ikincil sinyal sistemlerini aktive etme düzeyleriyle korelasyon gösterdiği saptanmıştır (95).

Nigrostriatal dopamin depleasyonu sonucunda, MSN dendritik çıkıntıları üzerinde yakın ilişki halinde bulunan sinapslar üzerinden etki gösteren glutamaterjik ve dopaminerjik uyarım arasındaki hassas denge bozulur ve kortikostriatal yolda aşırı glutamaterjik aktivite ortaya çıkar (96), kronik L-dopa tedavisi ile başka adaptif değişiklikler de eklenir. NMDA reseptörleri iki NR1 ve iki NR2 alt ünitesinden oluşur. NMDA reseptörleri sinaptik veya ekstra-sinaptik yerleşim gösterir ve her bir

alt ünite farklı membran ilişkili protein gruplarıyla bağlantı halindedir. Kronik L-dopa tedavisi ile diskinezi gelişen PH hastalarının beyinlerinin post-mortem incelemesinde, lateral putamende NR1/NR2B NMDA ve AMPA reseptörlerinin diskinezi olmayanlara ve kontrollere daha fazla sayıda bulunduğu saptanmıştır (97). Bu durum kortikostriatal glutamaterjik girdilere karşı post-sinaptik düzeyde artmış hassasiyet ve diskinezi patogenezi arasında bir ilişki bulunduğu yönünde yorumlanmıştır. Ayrıca MSN'lerde kronik L-dopa tedavisiyle birlikte kinaz/fosfataz dengesinde ortaya çıkan bozukluk NMDA ve AMPA reseptörlerinin fosforilasyon durumlarını değiştirerek diskinezi patogeneziinde rol oynayabilmektedir (98). Böylece kronik L-dopa tedavisi sonucu striatumda fosforile DARPP-32 miktarı artmakta, fosforile DARPP-32'nin inhibe ettiği PP-1 fosforile ve aktif durumda bulunan NMDA ve AMPA reseptörlerini defosforile ederek inaktive edememektedir (99). Glutamat antagonistlerinin diskinezi tedavisindeki etkinlikleri de yine bu hipotezi desteklemektedir (100).

Parkinson hastalığı diskinetik rat modeli çalışmalarında L-Dopa ile tedavinin, 6-hidroksidopamin (6-OHDA) lezyonu ile aynı taraf bazal ganglionlarda endotelial proliferasyona, kan beyin bariyeri bütünlüğünde bozulmaya ve artmış mikrovasküler damar uzunluğuna neden olduğu gösterilmiştir (10). Endotelial proliferasyon ve bozulmuş KBB, etkilenmiş beyin bölgelerine L-Dopa in hızlı ve geniş dağılımına neden olarak, LID ve motor dalgalanmalarda önemli bir patofizyolojik role sahip olabilir (11,12).

En fazla görülen diskineziler (17):

- Tepe dozu diskinezi
- 'Wearing off' diskinezi
- Difazik distoni/diskinezi

Tepe dozu diskinezi:

En sık görülen tipidir, koreiform, belli bir paterni olmayan, bükücü ya da dönücü karakterde olup genellikle ekstremitelerde, gövde ve baş bölgesinde görülür. L-dopa dozu azaltıldığında düzelme olur.

Wearing off distoni:

Düşük ya da azalan dopamin seviyesi ile ilişkilidir, genellikle geceleri veya sabah ilk L-dopa dozundan önce olur. İstemsiz sürekli kas kontraksiyonları genellikle alt ekstremitelerde ortaya çıkar ve ayakta inversiyon yada plantar flexiyona neden olur. Dopamin agonisti, kontrollü salınımlı L- dopaya iyi yanıt verir.

Difazik distoni /diskinezi:

Görece daha az rastlanır. Hem on hemde wearing off döneminde görülür. Distoni + kore kombinasyonu görülür. Tipik olarak alt ekstremiteleri etkiler. Tedavisi güçtür, daha fazla ve düzenli dopamin düzeyi sağlanmaya çalışılır(18).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Yapılan çalışmayla ilgili olarak çalışmaya başlanılmadan önce Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığından onay alınmıştır. Çalışma Şubat-Mayıs 2013 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Kliniği ve Parazitoloji kliniği tarafından yürütülmüştür.

3.1. İlaçlar ve gruplar

HUVEC hücre kültüründe etkinliği değerlendirilecek olan L-dopa, amantadin ve vandetanib (vasküler endotelial growth faktör reseptör inhibitörü) 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Ayrıca L-dopa 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} konsantrasyonuna, amantadin 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} konsantrasyonlarında eklenerek ikili kombinasyon grupları oluşturulmuştur.

3.2. Hücre Kültürü

Çalışmada ATCC (American Type Culture Collection)'den elde edilen HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cell) hücre serisi kullanılmıştır.

Besiyeri hazırlığı: Hücre kültüründe kullanılacak besiyeri, Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) içerisine penicilin-streptomisin , %1 L-glutamin ve fetal bovine serum (FBS) ilave edilerek hazırlandı (Tablo 3, Şekil 2).

Çalışma süresince kullanılacak HUVEC hücre serisinin devamının sağlanması ve çoğaltılması için pasajlar yapıldı.

Tablo 3: Hücre kültür ortamının hazırlanmasında kullanılan malzemeler

Hücre Kültür Besiyeri	KullanılanMiktar	Firma	Lot. No.
Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)	100ml	WISENT Inc St. Bruno, Quebec, Canada	22K2314
Penicilin-Streptomisin (10000 U/10000 Mg/ml)	1ml	Biological Industries, Berlin	644U
L-glutamin	1ml	Biochrom KG, Berlin	243A
Fetal Bovine Serum (FBS)	10ml	WISENT Inc St. Bruno, Quebec, Canada	633A

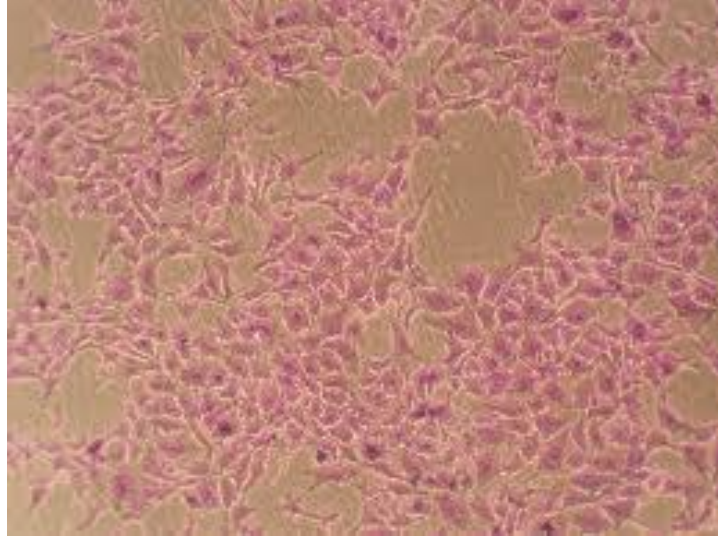


Şekil 2: Hücre Kültüründe kullanılan malzemeler

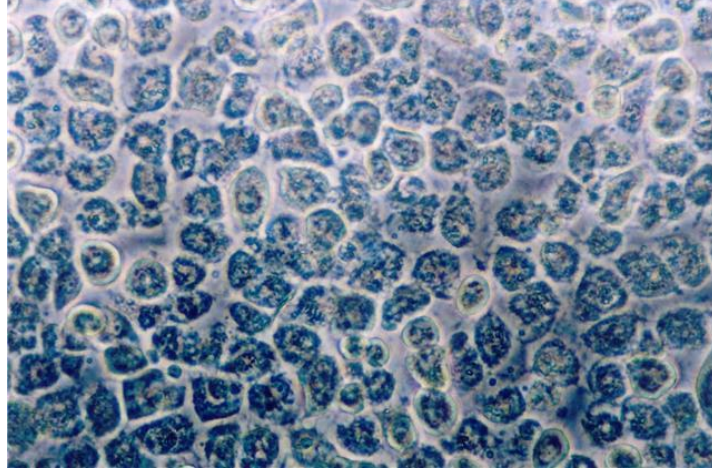
Pasaj Yapılması:

Hücrelerin yapışarak çoğaldığı hücre kültür kabındaki (flask) besiyeri aspire edildi. Fosfat buffer saline (PBS) ile hücreler yıkandıktan sonra Tripsin/EDTA solüsyonu (0,05 trypsin+%0,02 EDTA, WISENT Inc St. Bruno, Quebec, Canada) hücreler üzerine eklendi ve 37 °C'de 5 dakika etüvde bekletilerek hücrelerin flask yüzeyinden ayrılması sağlandı. FBS içermeyen DMEM ilave edilerek tripsin aktivasyonu durduruldu ve hücre süspansiyonu hazırlandı. Hazırlanan hücre süspansiyonu iki flaske bölünerek pasajlandı. Hücre kültür kaplarındaki hücre çoğalması izlenerek bu işlem tekrarlandı ve hücre kültür serisinin devamlılığı sağlandı.

Çalışmada HUVEC hücre serisinin 6 ile 11. pasajlar arasındaki hücreleri kullanıldı (Şekil 3 ve 4).



Şekil 3: HUVEC hücre serisindeki hücrelerin $\times 100$ büyütmedeki görünümü



Şekil 4: HUVEC hücre serisindeki hücrelerin $\times 200$ büyütmedeki görünümü

WST-1 Testi;

WST-1;(2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino)-carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide) testi ile Vandetanib ile Parkinson hastalığının tedavisinde kullanılan amantadin ve L-dopa'nın farklı konsantrasyonlarda HUVEC hücrelerinin proliferasyonu üzerine etkisi hem ilaçlar tek başına hem de kombine olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Proliferasyonun belirlenmesinde, bu ilaçları hazırlandığı solüsyonlar ISO 10993-5 numaralı protokolünde belirtildiği üzere fenol red içermeyen DMEM içerisine, FBS, L-glutamin ve Peniciline-Streptomycine ilave edilerek hazırlandı.

WST-1 çalışma öncesi yapılan işlemler;

1. Hücre pasaj yapılmadan önce 100 μ l süpernatant kısmı ayrıldı. Bu testlerde 'kontrol' kısmını oluşturdu.
2. Hücreler phosphate buffer saline (PBS) ile 2 kez yıkayıp Tripsin/EDTA ilave edildi.

3. 37 °C'de, %5 CO2 içeren inkübatörde 5-10 dk bekletildi.
4. Mikroskopta hücrelerin kalktığı görüldüğünde reaksiyonu durdurmak için besiyeri ilave edildi.
5. 1300 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
6. Süpernatat kısmı atıldı ve süspansiyondaki hücre sayısı 2×10^5 hücre/mL olacak şekilde besiyeri eklendi.

WST-1 çalışma yönteminin prosedürü;

Kullanılan temel ekipmanlar; 96 kuyucuklu mikroplate, mikroplate okuyucu (spektrofotometre), %5 CO2 inkübatör ve multikanal pipettir.

1. Mikroplate kuyucuklarına 100 µl hücre pipetlendi ve hücrelerin yapışmasını sağlamak için 24 saat 37 °C'de, %5 CO2'li etüvde inkübe edildi.
2. Hücrelerin yapışması sağlandıktan sonra mikroplate kuyucuklarına her ilaç konsantrasyonu için 8 kuyucuk olacak şekilde ilaçları içeren DMEM'den 100 µl ilave edildi. Buharlaşmayı önlemek için plağın kenardaki kuyucuklarına serum fizyolojik eklendi. Ayrıca her plakta kontrol (Hücre+besiyeri) ve kör (blank) (sadece besiyeri) kuyucukları da konuldu. Plaklar tekrar 37 °C'de, %5 CO2'li ortamda 24, 48 ve 72 saat inkübasyona bırakıldı. Test sıvılarının mikroplate içinde yerleşimleri Tablo 4'te gösterilmiştir.
3. Kullanımdan hemen önce WST-1 solüsyonu 37°C'lik su banyosunda çözüldü. Berrak solüsyon oluncaya dek hafifçe karıştırıldı.
4. Her kuyucuğa 10 µl reaksiyon solüsyonu eklendi ve inkübatörde 2 saat bekletildi.

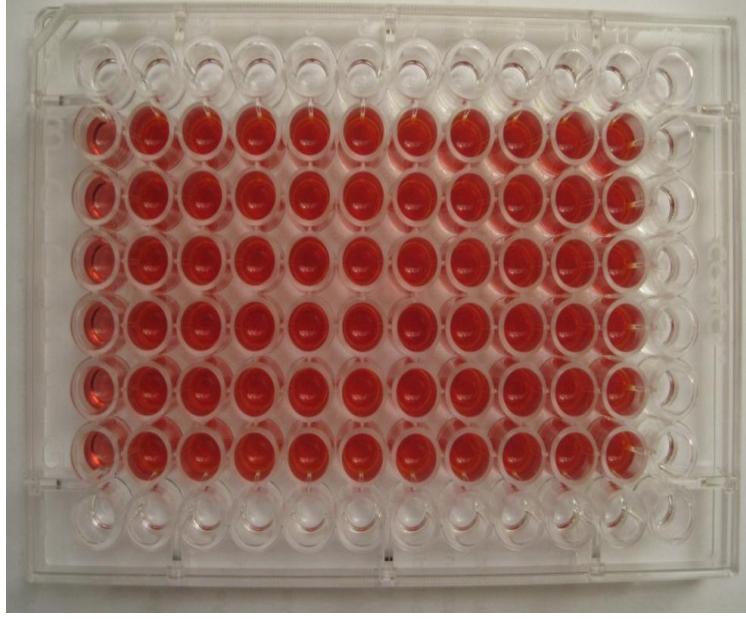
5. Oluşan turuncu renkli formazol kristallerinin absorbansı mikropate okuyucuda (Thermo scientific, multiskan FC) 450-500 nanometrede referans olarakta 620 nanometrede okundu.

Şekil 5’te mikropate turuncu renk almış kuyucuklar görülmektedir.

Tablo 4: Test sıvılarının mikropate içindeki yerleşimleri

(**SF:** Serum Fizyolojik, **B:** Blank (Kör alan), **K:** Kontrol, **İ:** İlaçlar)

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	SF	SF	SF	SF	SF	SF	SF	SF	SF	SF	SF	SF
B	B	K	B	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	SF
C	B	K	B	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	SF
D	B	K	B	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	SF
E	B	K	B	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	SF
F	B	K	B	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	SF
G	B	K	B	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	SF
H	SF	SF	SF	SF	SF	SF	SF	SF	SF	SF	SF	SF



Şekil 5: WST-1 solüsyonu eklendikten sonra turuncu renk almış mikropate kuyucuklarının görünümü

İnkübasyon periyodundan sonra 96 kuyucuklu deney plâğına WST-1 solüsyonu eklenerek 450 nm dalga boyunda mikropate okuyucusunda okutularak her deney grubunda bulunan hücreler ve ilaç uygulanmayan kontrol grubundaki hücrelerin canlılıkları analiz edilmiştir. Çalışmamızda altılı tekrar grupları kullanılmıştır.

Kontrol grubundaki hücrelerin canlılık skoru % 100 olarak kabul edilerek ilaç uygulanan deney grubundaki hücrelerin canlılığı kontrol grubuna göre hesaplanmıştır. Hücresel canlılık skorunu belirlemek için örneklerin optikal dansitesi(OD) negatif kontrolleri ile karşılaştırılarak şu formül kullanılmıştır:

$$\text{Hücresel canlılık skoru} = [(\text{OD}_{450}(\text{deney}) / \text{OD}_{450}(\text{negatif kontrol})) \times 100]$$

3.3. İstatistiksel Analizler

Araştırmadan elde edilen veriler, SPSS 16.0 paket programında bilgisayara aktarılmış ve analiz edilmiştir. Bütün veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Normal dağılıma sahip olan değişkenler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA), normal dağılım göstermeyen değişkenler için ise Kruskal-Wallis varyans analizi testleri kullanılarak gruplar arası ölçümler karşılaştırıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi tüm testler için ($p < 0.05$) olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

Levodopa, amantadin ve vandetanibin maximum konsantrasyonda (10^{-5}) hücrel canlılık üzerine etkisi her bir zaman aralığında karşılaştırılmıştır. Levodopa uygulanan grupta hücrel canlılık skoru 24. saatte % 118 olup anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur($p<0,05$). Gruplar arasında 48. ve 72. saat değerleri açısından ise anlamlı farklılık saptanmadı. İlaçların maximum konsantrasyonlarının HUVEC canlılık skoruna etkisi Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5: İlaçların maximum konsantrasyonlarının 24, 48 ve 72. saatte HUVEC canlılık skoruna etkisi

İlaçlar	HUVEC canlılık skoru*		
	24.saat**	48.saat	72.saat
Levodopa	118,0±8,2	91,4±14,0	112,9±37,6
Amantadin	98,7±7,0	109,0±15,2	114,7±23,7
Vandetanib	102,3±12,3	108,7±17,7	125,8±29,2

*Ortalama±standart sapma

** $p<0,05$

İlaçların minimum konsantrasyonda (10^{-7}) hücrel canlılık üzerine etkisi her bir zaman aralığında karşılaştırıldığında ise sadece 24. saatte amantadin uygulanan grupta hücrel canlılık skoru % 128 olup anlamlı olarak daha yüksek idi ($p<0,05$). Gruplar arasında 48 ve 72. saatte canlılık skoru açısından anlamlı farklılık yoktu. İlaçların minimum konsantrasyonlarının HUVEC canlılık skoruna etkisi Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6: İlaçların minimum konsantrasyonlarının 24, 48 ve 72. saatte HUVEC canlılık skoruna etkisi

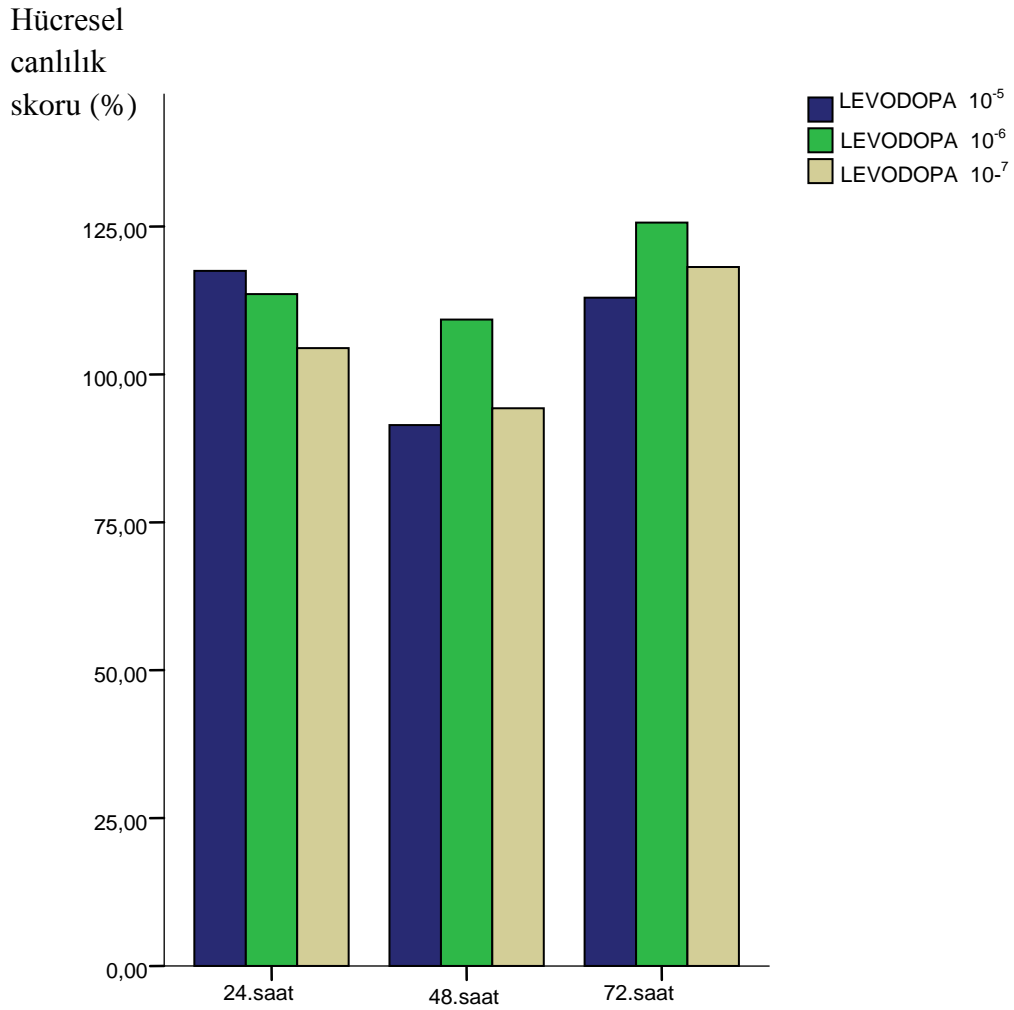
İlaçlar	HUVEC canlılık skoru*		
	24.saat**	48.saat	72.saat
Levodopa	104,4±4,7	94,2±15,4	118,1±21,5
Amantadin	128,8±17,7	116,7±13,8	115,2±13,0
Vandetanib	106,2±14,5	119,4±23,7	109,0±27,0

*Ortalama±standart sapma

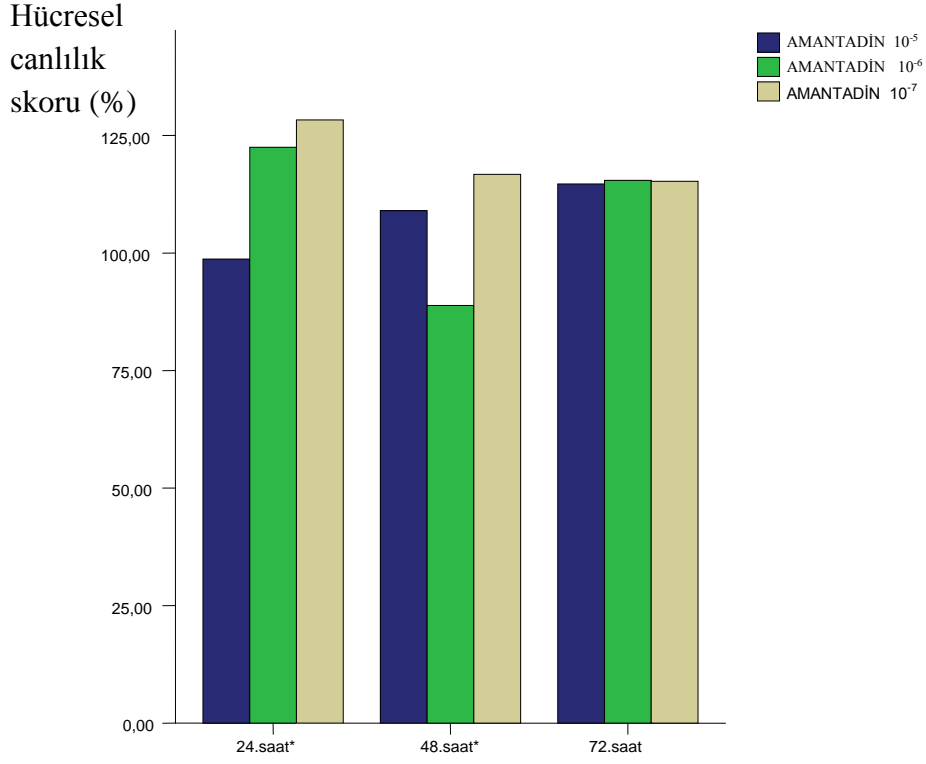
** $p<0,05$

Her bir ilacın 3 farklı konsantrasyonunun (10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7}) 24, 48 ve 72. saat için HUVEC canlılık skoruna etkisi Şekil 6, 7 ve 8 de gösterilmiştir. Buna göre 24. saatte amantadin 10^{-5} konsantrasyon uygulanan grupta hücrel canlılık skoru % 98 iken 48. saatte 10^{-6} konsantrasyon uygulanan grupta hücrel canlılık skoru % 88

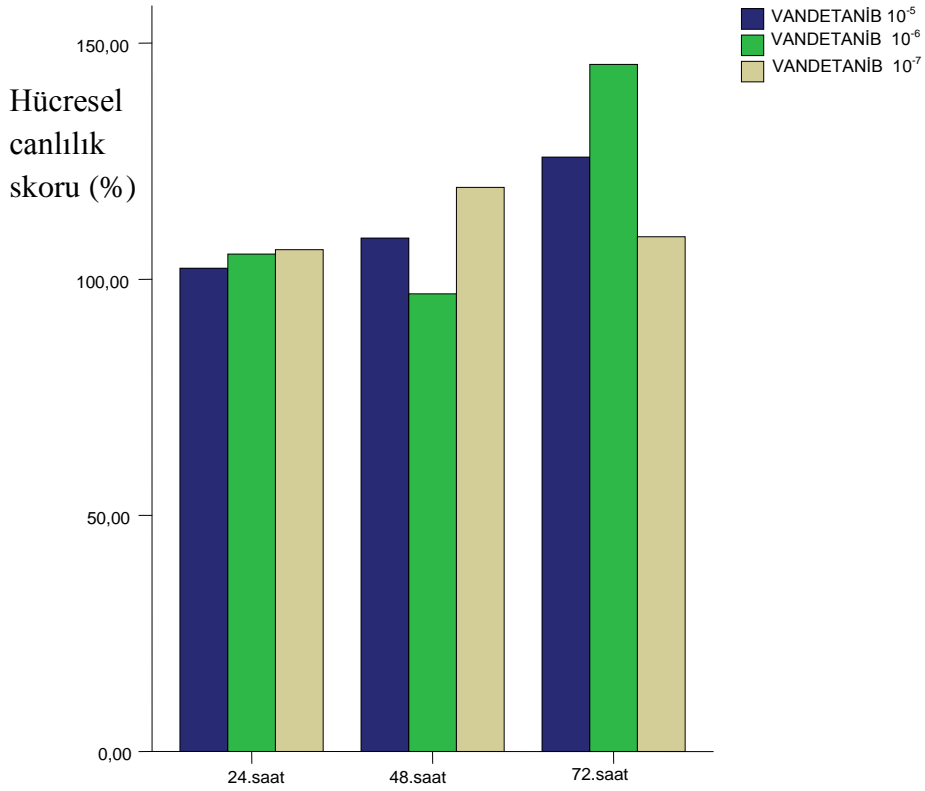
olup diğer konsantrasyonlarına göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Amantadinin farklı konsantrasyonlarında 72. saatte hücresel canlılık skoru açısından anlamlı farklılık bulunamadı. Levodopa'nın 3 farklı konsantrasyonda hücresel canlılık skoruna etkisi değerlendirildiğinde hiçbir zaman diliminde anlamlı farklılık elde edilememiştir. Farklı konsantrasyonlardaki vandetanib grublarında da anlamlı farklılık gözlenmedi.



Şekil 6: Levodopa'nın farklı konsantrasyonlarının 24, 48 ve 72. saatte HUVEC canlılık skoruna etkisi



Şekil 7: Amantadinin farklı konsantrasyonlarının 24, 48 ve 72. saatte HUVEC canlılık skoruna etkisi *(p<0,05).



Şekil 8: Vandetanibin farklı konsantrasyonlarının 24, 48 ve 72. saatte HUVEC canlılık skoruna etkisi

Tek başına levodopa 10^{-5} konsantrasyonu ile buna amantadin 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} konsantrasyonlarının eklenmesi ile oluşturulan 3 grubun HUVEC canlılık skoruna etkisi Tablo 7’ de gösterilmiştir. Buna göre 24. saatteki veriler değerlendirildiğinde tek başına levodopa 10^{-5} konsantrasyonu uygulanan grupta, 3 farklı konsantrasyonda amantadin eklenen gruplara göre hücresel canlılık skoru anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Gruplar arasında 48 ve 72. saat skorlarında anlamlı farklılık bulunamadı.

Tablo 7: Levodopa 10^{-5} konsantrasyonunun tek başına ve amantadin 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} konsantrasyonlarının eklenmesi ile oluşturulan grupların HUVEC canlılık skoruna etkisi

İlaçlar	HUVEC canlılık skoru*		
	24.saat**	48.saat	72.saat
Levodopa 10^{-5}	118,0±8,2	91,4±14,0	112,9±37,6
Levodopa 10^{-5} + Amantadin 10^{-5}	100,5±5,4	97,7±11,6	97,5±4,4
Levodopa 10^{-5} + Amantadin 10^{-6}	103,8±2,9	95,0±12,5	100,7±6,7
Levodopa 10^{-5} + Amantadin 10^{-7}	100,2±8,2	98,4±12,8	101,8±5,2

*Ortalama±standart sapma

** $p < 0,05$

Tek başına levodopa 10^{-6} konsantrasyonu ile, bu miktara amantadin 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} konsantrasyonlarının eklenmesi ile oluşturulan dört grubun HUVEC canlılık skoruna etkisi Tablo 5 de gösterilmiştir. Buna göre; 24. saatteki veriler değerlendirildiğinde tek başına Levodopa 10^{-6} konsantrasyonu uygulanan grupta canlılık skoru yüksek iken, amantadinin 3 farklı konsantrasyonunda kombine uygulandığı gruplarda canlılık skoru anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Gruplar arasında 48 ve 72. saat skorlarında anlamlı farklılık yoktu. Levodopa 10^{-7} konsantrasyonu ile Amantadin kombinasyonunun karşılaştırmasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 6).

Tablo 8: Levodopa 10^{-6} konsantrasyonunun tek başına ve amantadin 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} konsantrasyonlarının eklenmesi ile oluşturulan grupların HUVEC canlılık skoruna etkisi

İlaçlar	HUVEC canlılık skoru*		
	24.saat**	48.saat	72.saat
Levodopa 10^{-6}	113,5±14,0	109,2±11,9	125,6±4,4
Levodopa 10^{-6} + Amantadin 10^{-5}	99,2±2,3	107,1±16,1	104,3±5,8
Levodopa 10^{-6} + Amantadin 10^{-6}	93,5±7,2	102,8±16,2	102,4±7,2
Levodopa 10^{-6} + Amantadin 10^{-7}	97,6±5,9	106,6±21,5	106,7±4,2

*Ortalama±standart sapma

** $p < 0,05$

Tablo 9: Levodopa 10^{-7} konsantrasyonunun tek başına ve amantadin 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} konsantrasyonlarının eklenmesi ile oluşturulan grupların HUVEC canlılık skoruna etkisi

İlaçlar	HUVEC canlılık skoru*		
	24.saat**	48.saat	72.saat
Levodopa 10^{-7}	104,4±4,7	94,2±15,4	118,1±2,1
Levodopa 10^{-7} + Amantadin 10^{-5}	96,5±4,9	103,9±12,9	101,9±3,8
Levodopa 10^{-7} + Amantadin 10^{-6}	100,8±3,4	103,2±14,1	103,5±8,8
Levodopa 10^{-7} + Amantadin 10^{-7}	96,7±5,7	105,2±19,7	107,1±4,9

*Ortalama±standart sapma

** p<0,05

5.TARTIŞMA

Parkinson Hastalığı'na ait belirti ve bulgular, hastalığın ilk dönemlerinde L-dopa ve dopamin agonistleri ile tedaviye çok iyi yanıt verirken, beş yıldan uzun süredir L-dopa tedavisi altında olan hastaların % 75'inde diskineziyi de içeren motor komplikasyonlar ortaya çıkar (88). Giriş bölümünde detaylıca açıklandığı gibi LID mekanizmasında nigral hücre dejenerasyonuna bağlı dopaminerjik denervasyon, dopamin-D1 ve NMDA reseptörlerinin uyarılabilirliğinin artması, anormal sinaptik plastisite ve kortikostriatal yolda artmış glutamaterjik aktivite rol oynar (13).

Anjiogenez, Alzheimer hastalığı ve MS gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda ve onların hayvan modellerinde gösterilmiştir (101-104). Barcia ve ark. tarafından Parkinson hastalığı hayvan modellerinde de anjiogenez varlığı gösterilmiştir (9). Yapılan hayvan modellerinde anjiogenezis lehine elde edilen bulgular endotelial hücre sayısındaki artış (105) ve anjiogenik faktörlerin varlığı olup, insan Parkinson hastalarında yapılan çalışmalarda bulgularla tutarlılık göstermektedir (7-8).

Parkinson Hastalığı'nda dopaminerjik tedavi sırasında gelişen diskinezi mekanizmasında bazal ganglionlarda endotelial proliferasyon, kan beyin bariyeri bütünlüğünde bozulma ve artmış mikrovasküler damar uzunluğu gibi anjiogenez bulguları gösterilmiştir (10).

Braak ve ark. PH hastalarında anjiogenezis varlığını, hastalıktan etkilenen alanlarda integrin $\alpha\beta3$ reaktivitesini ölçerek değerlendirmişlerdir (106). Bradaric ve ark. 2010 yılında yaptıkları post mortem insan beyin dokusu çalışmasında patolojik olarak PH, PSP ve rastlantısal Lewy body hastalığı tanısı alan hastaları değerlendirmişlerdir. Bu hastalarda SNc, putamen, LC ve midfrontal korteksde aktive mikrogliya sayısı ile birlikte integrin $\alpha\beta3$ düzeyini araştırmışlardır. Tüm olgularda LC ve SNc da artmış $\alpha\beta3$ düzeyi saptamışlardır. Ancak PH ve PSP de putamende kontrol grubuna göre artmış $\alpha\beta3$ düzeyi mevcut iken, SNc da artmış mikrogliya sayı ve aktivasyonu tespit edilmiştir (107).

Westin ve ark. ratlarda 2006 yılında yaptıkları çalışmada nigrostriatal yola 6-OHDA enjeksiyonu ile deneysel PH modeli oluşturmuşlardır (10). Bu ratlara 2 hafta boyunca timidin analogu 5-bromo- 2- deoxyuridine (BrdU) ile birlikte L-dopa enjeksiyonu yapılmıştır. Tedavi sonrası BrdU-pozitif hücreler mikroskopik olarak değerlendirilmiştir. Diskinezi gelişen ratlarda striatum ve onun hedef yapıları olan globus pallidus, SNr da; nondiskinetik ratlar ve kontrol grubuna göre daha yüksek oranda hücre proliferasyonu tespit edilmiştir. Aynı zamanda L-dopa tedavisi verilen diskinetik ratların 6-OHDA lezyonu ile aynı taraf bazal ganglionlarında artmış mikrovasküler damar uzunluğu tespit edilmiş olup, entopedunculer nucleus (EP) ve SNr deki artış anlamlı bulunmuştur. 6-OHDA lezyonunun kontralateralindeki vasküler uzunluk açısından ise anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (10). Kan damarlarından Nestin salınımı anjiogenez ile ilişkili olup rat beyin dokularında daha önce gösterilmiştir (108). Westin ve ark. diskinetik ratlarda yaptıkları bu çalışmada da bazal gangliyon nükleuslarında nestin-pozitif damar profilini anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Çalışmada mikrovasküler permeabilite artışının göstergesi olarak albumin boyanmasını değerlendirmişlerdir. Diskinetik ratlarda tüm bazal gangliyonlarda artmış albumin seviyesi tespit edilmiş ve bu artış EP ve SNr de anlamlı bulunmuştur. Yine diskinetik ratlarda EP ve SNr de endotelial bariyer antigenlerinin (EBA) azalmış boyanması anlamlı bulunmuştur (10). L-dopa'ya bağlı diskinezi mekanizmasında striatumda endotelial proliferasyon, immatur endotelial markerların (nestin) artışı ve kan beyin bariyeri bütünlüğünü sağlayan EBA azalması önemli bir faktör olarak gösterilmiştir (108).

Lindgren ve ark. 2009 yılında 6-OHDA lezyonu oluşturulan ratlarda, L-dopa, Bromokriptin ve selektif D1 reseptor agonisti olan SKF38393 tedavisi ile bazal gangliyonlarda görülen anjiogenetik değişiklikleri incelemiştir. Bromokriptin tedavisi alan ratlar ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, L-dopa grubunda lezyon oluşturulan tarafta Striatum, GP, EP ve SNr da BrdU/ laminin-pozitif kan damarı hücre sayısı ve damar duvarında nestin ekspresyonu anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Yine L-dopa grubunda EBA-immun pozitif damarların yüzdesi anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur(109). L- dopa ile tedavi edilen ratlarda lezyon oluşturulan tarafta EP ve SNr de toplam mikrovasküler uzunluk, Bromokriptin ile

tedavi edilen ratlar ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Deneyin ikinci kısmında ratlara L-dopa, düşük doz SKF38393 (0,5 mg/kg) veya yüksek doz SKF38393 (1,5 mg/kg) tedavisi verilmiştir. L-Dopa ve yüksek doz SKF38393 grubunda BrdU/laminin pozitif hücre sayısı ve damarların nestin ekspresyonu anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Yine aynı grublarda EP ve SNr de anlamlı olarak azalmış EBA immun boyanması tespit edilmiştir. Deneyin ileri aşamasında, L-dopa tedavisi alan ratlara D1 reseptör antagonisti SCH23390 veya D2 res antagonisti eticloprid düşük (0.01 mg/ kg) ve yüksek dozda (2.0 mg/kg) uygulanmıştır. SCH23390 grubunda anormal istemsiz hareketler açısından kontrol grubuna göre farklılık gözlenmemiş olup, LID'nin D1 res antagonisti tarafından engellendiği gösterilmiştir. Düşük doz D2 res antagonistinin diskinezi üzerine etkisi gösterilmemiştir. L-dopa tedavisine kıyasla, yüksek doz eticloprid tedavisi ile istemsiz hareketlerde % 50 azalma tespit edilmiştir. D1 res antagonisti tedavisi ile L-Dopa' ya bağlı BrdU/laminin-pozitif hücre sayısı artışında ve EBA immunreaktivitesindeki azalma engellenirken, D2 res antagonistinin anjionezisi bloke edici etkisi bulunmamıştır(109).

Amantadin'in L-Dopa ile kombinasyonu ile görülen anti-parkinsoniyen ve anti-diskinetik etkisinin mekanizması hala tam açıklanamamıştır. Amantadin dopamin geri alımını inhibe ederken (110), Dopa dekarboksilaz aktivitesini artırır (111). Ayrıca NMDA reseptör antagonisti olarak davranır (112) ve potasyum kanallarını inhibe ederek membran eksitabilitesini artırır (113). Amantadin ayrıca extrastriatal alana da etki ederek diskineziyi önleyebilir. Glutamat (GLU) düzeyini düşürüp GABA (Gama aminobütirik asit) seviyesini artırarak primer motor korteks eksitabilitesini azaltabilir (114).

Bido ve ark. 2011 yılında yayınladıkları çalışmada 6-OHDA ile tek taraflı lezyon oluşturulan diskinetik mice ve ratlarda davranışsal değişiklikleri ve Amantadinin veya L-Dopa tedavisi ile SNr ve GP da oluşan nörokimyasal değişiklikleri incelemişlerdir. Striatuma tek taraflı 6-OHDA injeksiyonu yapılan ratlarda, başlıca karşı pençeyi etkileyen akinezi ve bradikinezi ile tüm motor performansda düşüş gözlenmiştir. Ratlara L-Dopa verilmesi ile hareketleri normalize

olmuştur. Kronik L-dopa (15 mg/kg) tedavisi verilen diskinetik ratlara serbest hareketleri esnasında SNr ve GP da GABA ve Glutamat değerlerini ölçmek için stereotaktik operasyonla mikrodiyaliz probu implante edilmiştir. Sadece L-Dopa veya Amantadin (40 mg/kg) tedavisi alanlar ratlarla, L-Dopa+ Amantadin tedavisi alan ratlar, kontrol grubu ile birlikte anormal istemsiz hareketler ve SNr ve GP dan GABA ve GLU salınımı açısından karşılaştırılmıştır. Tedaviye Amantadin eklenmesi ile kümülatif anormal istemsiz hareket skorlarında yaklaşık %50 azalma görülürken, bu davranışsal değişiklikler SNr ve GP da farklı nörokimyasal değişikliklerle ilişkilendirilmiştir. L-dopa tedavisi ile SNpr de GABA düzeyinde bazal değerine göre yaklaşık 3 kat anlamlı artış görülürken, GLU düzeyinde bir miktar azalma gösterilmiş fakat bu fark anlamlı bulunmamıştır. Amantadinin anti-diskinetik etkisinden dolayı L-dopa ya bağlı GABA seviyesindeki artışı engellediği gösterilmiştir. Gruplar arasında SN daki GLU düzeyinde anlamlı farklılık gözlenmemiştir. GP daki değişiklikler incelendiğinde tek başına L-Dopa veya Amantadin'in GABA seviyesinde anlamlı farklılık yaratmadığı bulunurken, L-Dopa + Amantadin tedavisi alan grupta yaklaşık % 217 artış gözlemlenmiştir. Pallidal GLU düzeyinde ise gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Amantadin nigral GABA artışını önlediği halde anormal istemsiz hareketleri tamamen engellememiştir (115). L-dopa uygulanması sonrasında diskinetik ratların SNr ' da extraselüler dopamin seviyesinde non diskinetik ratlarla karşılaştırıldığında büyük bir artış göstermişlerdir (116).

Ohlin ve ark. 2011 yılında yaptıkları çalışmada, 6-OHDA ile tek taraflı lezyon oluşturulan ratlarda düşük doz (6 mg/kg) veya yüksek doz (12 mg/kg) L-Dopa kronik tedavisinin anjiogenez üzerine etkisi araştırılmıştır. Yüksek doz L-Dopa grubunda SNr daki BrdU/ laminin pozitif hücre sayısı %30 daha fazla iken, mikrovasküler nestin düzeyi de 2 kat daha fazla tespit edilmiştir. Striatumda endotelial bariyer antijenlerinin immun boyanmasının sadece yüksek doz L-Dopa grubunda anlamlı olarak düşük olduğu gösterilmiştir (118).

Çalışmamızda Levodopa ve amantadinin anjiogenez üzerine etkinliğinin değerlendirilmesi için HUVEC kültürü kullanılmıştır. İlaçların inkubasyonu

sonrasında kontrol gruplarına göre kıyaslanarak HUVEC canlılık skorları elde edilmiştir. Daha önce bu metodoloji kullanılarak yapılmış bir çalışma mevcut değildir. Levodopa, amantadin ve vandetanib maximum konsantrasyonda HUVEC kültürüne uygulandığında hücrel canlılık skoru L-dopa grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. İlaçlar minimum konsantrasyonda uygulandığında ise hücrel canlılık skoru amantadin grubunda daha yüksek bulunmuştur. Amantadin iki farklı konsantrasyonda HUVEC canlılık skorunu azaltmıştır. Bu sonuç amantadinin antidiskinetik etkisinin doz bağımlı olabileceğini düşündürmektedir. Levodopaya amantadin eklenmesi ile hücrel canlılık skorlarında anlamlı düşüş gözlenmiştir. Bu sonuç L-dopa tedavisi ile kombine uygulanmasının, amantadinin anjiogenez üzerindeki negatif etkisini engellemediğini göstermektedir.

Çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar bu konuda literatürde az sayıda yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. PH tedavisinde ortaya çıkan diskinezinin etyopatogenezinde yer alan önemli faktörlerden biri olan anjiogenezin engellenmesinde; antidiskinetik bir ajan olan amantadinin dopaminerjik tedaviye erken dönemde eklenmesi diskinezilerin ortaya çıkmasında engelleyici bir faktör olabilir.

6.SONUÇ

Parkinson Hastalığı'nda Levodopaya bağlı diskinezi mekanizması daha önce deneysel rat modellerinde ve insan beyin dokusu çalışmalarında gösterilmiştir. Çalışmamız Levodopa ve amantadinin HUVEC kültüründe hücresel canlılık üzerine etkisini araştıran ilk çalışma olması nedeniyle önemlidir. Bu çalışmada tek başına Levodopa kullanımı ile hücresel canlılığın anlamlı olarak daha yüksek olması diskinezi mekanizmasında anjiogenezisin rolünü ispat edecek bir araç olarak değerlendirilebilir. Amantadin eklenmesi ile hücresel canlılık skorlarının düşmesi, amantadinin antidiskinetik rolünü, antianjiogenetik etki aracılığıyla hücresel vasküler canlılığı azaltarak yerine getirdiğini göstermektedir. Sonuç olarak; diskinezi mekanizmasında anjiogenezisin tam olarak aydınlatılabilmesi için bu konuda daha geniş kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır.

7. KAYNAKLAR

- 1) Fahn S, Przedborski S. Parkinsonism. In: Rowland LP. ed, Merrit's Textbook of Neurology. 10th Edition. Philadelphia: Lipincott Williams and Wilkins 2000;679-683
- 2) Croisier E, Moran LB, Dexter DT, Pearce RK, Graeber MB. Microglial inflammation in the parkinsonian substantia nigra: relationship to alpha-synuclein deposition. *J Neuroinflamm* 2005;2: 14
- 3) McGeer PL, McGeer EG. Glial reactions in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2008;23: 474–483
- 4) Whitton PS. Inflammation as a causative factor in the aetiology of Parkinson's disease. *Br J Pharmacol* 2007;150:963–976
- 5) Zhang W, Wang T, Pei Z, Miller DS, Wu X, Block ML, Wilson B, Zhang W, Zhou Y, Hong JS, Zhang J. Aggregated alphasynuclein activates microglia: a process leading to disease progression in Parkinson's disease. *FASEB J* 2005; 19: 533–542
- 6) Pogue AI, Lukiw WJ. Angiogenic signaling in Alzheimer's disease. *Neuroreport*. 2004; 15: 1507–1510
- 7) Wada K, Arai H, Takanashi M, Fukae J, Oizumi H, Yasuda T, Mizuno Y, Mochizuki H. Expression levels of vascular endothelial growth factor and its receptors in Parkinson's disease. *Neuroreport*. 2006; 17: 705–709
- 8) Yasuda T, Fukuda-Tani M, Nihira T, Wada K, Hattori N, Mizuno Y, Mochizuki H. Correlation between levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in the striatum of patients with Parkinson's disease. *Exp Neurol* 2007;206:308–317
- 9) Barcia C, Bautista V, Sanchez-Bahillo A, Fernandez-Villalba E, Faucheux B, Poza y Poza M, Fernandez Barreiro A, Hirsch EC, Herrero MT. Changes in vascularization in substantia nigra pars compacta of monkeys rendered parkinsonian. *J Neural Transm* 2005; 112:1237–1248

- 10) Westin JE, Lindgren HS, Gardi J, Nyengaard JR, Brundin P, Mohapel P et al. Endothelial proliferation and increased blood–brain barrier permeability in the basal ganglia in a rat model of 3,4-dihydroxyphenyl-L-alanine-induced dyskinesia. *J Neurosci* 2006; 26: 9448–9461.
- 11) Cenci MA, Lindgren HS. Advances in understanding L-DOPA-induced dyskinesia. *Curr Opin Neurobiol* 2007; 17: 665–671.
- 12) Cenci MA, Lundblad M. Post- vs presynaptic plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia. *J Neurochem* 2006;99: 381–392.
- 13) Calabresi, P., Di Filippo, M., Ghiglieri, V., Picconi, B. Molecular mechanisms underlying levodopa-induced dyskinesia. *Mov Disord*, 2008;23 Suppl 3, S570-579.
- 14) Factor SA, Molho ES. Transient benefit of amantadine in Parkinson's disease: the fact about the myth. *Mov Disord*. 1999;14: 515-516.
- 15) Nie D, Tang K, Diglio C, Kenneth VH. Eicosanoid regulation of angiogenesis: role of endothelial arachidonate 12-lipoxygenase. *Blood* 2000; 95: 2304-2311.
- 16) Jackson CJ, Schriber L. Angiogenesis in rheumatoid arthritis, ed: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen AJ, Weinblatt M E, *Rheumatology*, 3.baskı, Mosby, Spain, 2003: 851-884.
- 17) Fraser A, Fearon U, Reece R, Emery P. Matrix metalloproteinase 9, apoptosis, and vascular morphology in early arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2001;44: 2024-28.
- 18) Ferrara N. VEGF: An update on biological and therapeutic aspects. *Curr Opin Biotechnol* 2000; 11: 517-24.
- 19) Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME ve ark. VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells vişa the lymphatics. *Nat Med* 2001; 7: 186-91.
- 20) Kliche S, Waltenberger J. VEGF receptor signaling and endothelial function. *JUBMB Life* 2001; 52(1-2): 61-6.

- 21) Dvorak HF, Brown LF, Detmar M ve ark. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995; 146: 1029-39.
- 22) Bates DO, Hillman NJ, Williams B ve ark. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. *J Anat* 2002; 200: 587-597.
- 23) Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrin Rev* 1997; 18: 4-25.
- 24) Nör JE, Christensen J, Mooney DJ ve ark. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated angiogenesis is associated with enhanced endothelial cell survival and induction of Bcl-2 expression. *Am J Pathol.* 1999 Feb;154(2):375-84.
- 25) Kasama T, Shiozawa F, Kobayashi K, Yajima N. Vascular endothelial growth factor expression by activated synovial leukocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2001;44: 2512-24.
- 26) Bren E C. VEGF in Biological Control. *Journal of Cellular Biochemistry* 2007; 102: 1358-67.
- 27) Perea, Trends Neurosci. Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic information. *G.* 2009; 32: 421-431
- 28) Ding YH, Li J. Cerebral Angiogenesis and Expression of Angiogenic Factors in Aging Rats after Exercise. *Current Neurovasc Res* 2006;3: 15-23
- 29) Nag S. The blood –brain barrier and cerebral angiogenesis: lessons from the cold-injury model. *Trends Mol Med* 2002; 8: 38-44
- 30) Storkebaum E, Lambrechts D, Carmeliet P.(2004). VEGF: once regarded as a specific angiogenic factor, now implicated in neuroprotection. *Bioessays.* Sep;26(9):943-54.
- 31) Sondell, M, Lundborg, G., and Kanje, M.(1999). Vascular endothelial growth factor has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell

survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. *J Neurosci.* Jul 15;19(14):5731-40.

32) Sondell M, Sundler F, Kanje M.(2000)Vascular endothelial growth factor is a neurotrophic factor which stimulates axonal outgrowth through the flk-1 receptor. *Eur J Neurosci.* Dec;12(12):4243-54.

33) Jin K, Zhu Y, Sun Y, Mao XO, Xie L, Greenberg DA.(2002) Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Sep 3;99(18):11946-50.

34) Przedborski S, Etiology and Pathogenesis of Parkinson disease, Dn: Frances Destefano ed, Parkinson's disease and movement disorders, 5th Edition. Philadelphia: Lipincott Williams and Wilkins, 2007; 77-93.

35)Leung H, Mok V. Parkinson's disease: aetiology, diagnosis, and management. *Hong Kong Med J.* 2005;11(6):476-489.

36) Paulson HL, Stern MB, Clinical manifestation of Parkinson's Disease. in: Watts RL, Koller WC ed, New-York: Mc-Graw Hill 1997; 51-52.

37) Doğu O, Basic Science: The Epidemiology And Its Contributions To The Etiology, *Turkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics* 2008;1(4):1-5.

38) Chan DK, Cordato DJ, O'Rourke F. Management for motor and non-motor complications in late Parkinson's disease. *Geriatrics* 2008 May;63(5):22-7.

39) Elbaz A, Bower JH, Maraganore DM. Risk tables for Parkinsonism and Parkinson's disease. *Journal of Clinical Epidemiology.* 2002;55:25-31.

40) Adler C, Ahlkog JE. Current Clinical Practice. Parkinson's Disease and Movement Disorders. New Jersey:2000;93-113.

41) Wooten GF, Currie LJ, Bovbjerg VE, Lee JK, Patrie JJ. Are men at greater risk for Parkinson's disease than women? *Neurology, Neurosurgery and Psychiatry.* 2004 Apr;75(4):637-9.

- 42) Rajput AH, Birdi S. Epidemiology of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relation Disorders*.1997;3:175-186.
- 43) Taner CM, Hubble JP, Chan P.Epidemiology and genetics of Parkinson's disease. *Movement Disorders*.1997:137-152.
- 44) Adams RD, Victor M, Ropper AH. *Principles of Neurology*. 6 th ed. New York, NY: McGraw-Hill;1997:1067-1078
- 45) Samuel MG, Tanner C. Etiology of Parkinson's disease. INJankovic J, Tolosa E. Eds. *Parkinson's disease and movement disorders*. Lipincott Williams Wilkins. Baltimore. 1998;7:133-159.
- 46) *Current Clinical Practice. Parkinson's disease and Movement Disorders*. Ed.Adler C, Ahlskog JE. New Jersey 2000
- 47) Fahn S. Parkinsonism. In: rowland LP, eds *Merrit's Textbook of Neurology*. 9th ed., Md. Lipincott Williams □ Wilkins. Baltimore. 1995:713-730.
- 48) Perl DP, Olanow CW, Calne D. Alzheimer's disease and Parkinson's disease: distinct entities or extremes of a spectrum of neurodegeneration? *Ann Neurol*. 1998;44:19-31
- 49) Waters CH. *Parkinson Hastalığının Tanısı ve Tedavisi*. Çev: Büyükkal B, Turgut yayıncılık ve Tic. A.Ş. İstanbul, 2000
- 50) Schapira AH, Olanow CW. *Parkinson hastalığında tedavi prensipleri*. Apaydın H (Çeviri Ed.) Sigma Publishing Danışmanlık ve Organizasyon Dış Tic.Ltd.ğti. 2006.
- 51) Dickson DW, Braak H, Duda JE et al. Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria. *Lancet Neurol* 2009;8:1150-57.
- 52) Hardy J, Lewis P, Revesz T et al. The genetics of Parkinson's syndromes: a critical review. *Gen Dev* 2009; 19: 254-265.
- 53) Ebedi M, Pfeiffer RF (editors). *Parkinson's disease*. CRC press: S171-181.

- 54) Przedborski S, Jackson-Lewis V. Mechanisms of MPTP toxicity. *Mov Disord.*1998;13(1):35-38.
- 55) Pollanen MS, Dickson DW, Bergeron C. Pathology and biology of the Lewy Body. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993;52:183-191.
- 56) Kuzuhara S, Mori H, Izumiya N, ve ark. Lewy bodies are ubiquitinated. *Acta Neuropathol (Berl)* 1988;75:345-353
- 57) Gibb WRG, Lees AJ. The relevance of the Lewy body to pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988;51:745-752
- 58) Ozansoy M, Başak AN. Parkinson hastalığının genetiği ve nörodejenerasyonun moleküler biyolojisi. *Parkinson Hast. Hareket Boz. Der.*, 2004;7(2):109-120
- 59) Morrison BM, Hof PR, Morrison JH. Determinants of neuronal vulnerability in neurodegenerative diseases. *Ann Neurol.* 1998 Sep;44(3 Suppl 1):32-44
- 60) Burrow JN, Blumbergs PC. Substantia nigra degeneration in motor neurone disease: a quantitative study. *Aust N Z J Med.* 1992 Oct;22(5):469-72.
- 61) Louis ED, Goldman JE, Powers JM et al. Parkinsonian features of eight pathologically diagnosed cases of diffuse Lewy body disease. *Mov Disord.* 1995;10:188-194.
- 62) Mortimer JA, Pirozzolo FJ, Hansch EC, ve ark. Relationship of motor symptoms to intellectual deficits in Parkinson's disease. *Neurology* 1982;32:133-137.
- 63) Cossette M, Levesque D, Parent A. Neurochemical characterization of dopaminergic neurons in human striatum. *Parkinsonism and Related Disorders.* 2005;11:277-86
- 64) Zileli T, Baysal Aİ. Nöroanatomi-Nörofizyoloji esasları. Hacettepe Üniv. Yayınları B32 Ankara, 1989.10-15.

- 65) Taner D. Fonksiyonel nöroanatomi ODTÜ geliştirme vakfi yayıncılık ve iletişim AŞ, METU press, Ankara 1998:170-179.
- 66) Fahn S. Description of Parkinson's disease as a clinical syndrome. Annals of the New York Academy of Sciences. 2003;991:1-14.
- 67) Brighina L, Frigerio R, Schneider NK, Lesnick TG, de AM, Cunningham JM, Farrer MJ, Lincoln SJ, Checkoway H, Pallone JA. Introduction to Parkinson's Disease, Disease-a-month, 2007;53:195- 199.
- 68) Lees AJ, Hardy J, Revesz T. Parkinson's disease. Lancet 2009;373:2055-66.
- 69) Rajput AH. Clinical features of tremor in extrapyramidal syndromes. In:Findley LJ, Koller WC, editörs. Handbook of tremor Disorders. New York:Marcel Dekker Inc;1995.s.275-291.
- 70) Weintraub D, Stern MB. Psychiatric complications in Parkinson disease. American Journal of Geriatric Psychiatry. 2005;13(10):844-851.
- 71) Ertan S. İ. Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Sempozyum Dizisi N0 42. Ocak 2005;s 249-254
- 72) Jankovich J. Pathophysiology and Clinical Assessment of Parkinsonian Symptoms and signs. In:PahtaR, Lyons KE, Koller WC, eds. Handbook of Parkinson's Disease, 3rd edition, Marcel Dekker Inc, New York, 2003:71-107
- 73) Bromberg MB. Consensus. Supplements to Clinical Neurophysiology. 2003;55(40):335-338
- 74) Fahn S, Jankovic J. Hareket Bozuklukları- İlkeler ve Uygulamalar. Akbostancı MC (Çeviri Ed.) Veri Medikal Yayıncılık 2008.
- 75) Çakmur R. Parkinson hastalığının epidemiyolojisi ve klinik özellikleri. Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi 2003:15-17.
- 76) Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2008; 79: 368-376.

- 77) Weintraub D, Comella CL, Horn S. Parkinson's Disease-Part 1: Pathophysiology, Symptoms, Burden, Diagnosis, and Assessment. *Am J Manag Care* 2008; 14: 40-48.
- 78) Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, et al. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992;55:181-184
- 79) Thanvi BR, Munshi SK, Vijaykumar N, et al. Neuropsychiatric non-motor aspects of Parkinson's disease. *Postgraduate Medical Journal* 2003;79:561-565.
- 80) Koller WC. Treatment of Parkinson's disease: mild and moderate treatment options. Syllabus, course 127. American Academy of Neurology Annual Meeting; 1995; Seattle, Wash.
- 81) Standaert DG, Young AB. Treatment of central nervous system degenerative disorders: Parkinson's disease. In: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff NB, Ruddon RW, Gilman AG, eds. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 1996:506-513.
- 82) Golbe LI, Sage JI. Medical treatment of Parkinson's disease. In: Kurlan R, ed. *Treatment of Movement Disorders*. Philadelphia, Pa: JB Lippincott Co; 1995: 1-56.
- 83) Parkinson Study Group. The COMT inhibitor entacapone improves motor fluctuations in patients with levodopa-treated Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 1997;42:747-755.
- 84) Pahwa R, Lyons KE. Early diagnosis of Parkinson's disease: recommendation from diagnostic clinical guidelines. *Am J Manag Care* 2010; 16: 94-99.
- 85) Schestatsky P, Ehlers JA, Rieder CRM et al. Evaluation of sympathetic skin response in Parkinson's disease. *Park Rel Dis*. 2006; 12: 486-491.
- 86) Stern, M.B. Contemporary approaches to the pharmacotherapeutic management of Parkinson's disease: an overview. *Neurology*, 1997. 49: S2-9.

- 87) Olanow CW, Stern MB, Sethi K. The scientific and clinical basis for the treatment of Parkinson disease. *Neurol* 2009; 72: S1-S136.
- 88) Marsden, C.D., Parkes, J.D. Success and problems of long-term levodopa therapy in Parkinson's disease. *Lancet*, 1977; 1, 345-349.
- 89) Marsden, C.D. Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1994; 57 (6), 672-681.
- 90) Ahlskog JE. Treatment of early stages of Parkinson's disease. Syllabus Course 8AC-004, American Academy of Neurology 51st Annual Meeting; Toronto, Ontario, Canada; 1999:35-50.)
- 91) Jenner, P. Molecular mechanisms of L-DOPA-induced dyskinesia. *Nat Rev Neurosci*, 2008; 9 (9), 665-677.
- 92) Kempster, P.A., Frankel, J.P., Bovingdon, M., Webster, R., Lees, A.J., Stern, G.M. Levodopa peripheral pharmacokinetics and duration of motor response in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1989; 52 (6), 718-723.
- 93) Olanow, C.W., Obeso, J.A., Stocchi, F. Continuous dopamine-receptor treatment of Parkinson's disease: scientific rationale and clinical implications. *Lancet Neurol*, 2006; 5(8), 677-687.
- 94) Hurley, M.J., Jenner, P. What has been learnt from study of dopamine receptors in Parkinson's disease? *Pharmacol Ther*, 2006; 111 (3), 715-728.
- 95) Guigoni, C., Aubert, I., Li, Q., Gurevich, V.V., Benovic, J.L., Ferry, S. ve diğ erleri. Pathogenesis of levodopa-induced dyskinesia: focus on D1 and D3 dopamine receptors. *Parkinsonism Relat Disord*, 2005; 11 Suppl 1, S25-29.
- 96) Picconi, B. Centonze, D., Rossi, S., Bernardi, G., Calabresi, P. Therapeutic doses of L-dopa reverse hypersensitivity of corticostriatal D2-dopamine receptors and glutamatergic overactivity in experimental parkinsonism. *Brain*, 2004; 127 (Pt 7), 1661-1669.

- 97) Calon, F., Rajput, A.H., Hornykiewicz, O., Bedard, P.J., Di Paolo, T. Levodopa induced motor complications are associated with alterations of glutamate receptors in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*, 2003;14 (3), 404-416.
- 98) Chase, T.N., Oh, J.D. Striatal dopamine- and glutamate-mediated dysregulation in experimental parkinsonism. *Trends Neurosci*, 2000; 23 (10 Suppl), S86-91.
- 99) Greengard, P., Allen, P.B., Nairn, A.C. Beyond the dopamine receptor: the DARPP-32/protein phosphatase-1 cascade. *Neuron*, 1999; 23 (3), 435-447.
- 100) Blanchet, P.J., Konitsiotis, S., Chase, T.N. Amantadine reduces levodopa-induced dyskinesias in parkinsonian monkeys. *Mov Disord*, 1998;13 (5), 798-802.
- 101) Desai BS, Schneider JA, Li JL, Carvey PM, Hendey B. Evidence of angiogenic vessels in Alzheimer's disease. *J Neural Transm*. 2009;116:587-597
- 102) Vagnucci AHJ, Li WW. Alzheimer's disease and angiogenesis. *Lancet* 2003;361:605-608
- 103) Holley JE, Newcombe J, Whatmore JL, Gutowski NJ. Increased blood vessel density and endothelial cell proliferation in multiple sclerosis cerebral white matter. *Neurosci Lett* 2010;470:65-70
- 104) Kirk S, Frank JA, Karlik S. Angiogenesis in multiple sclerosis: is it good, bad or an epiphenomenon? *J Neurol Sci* 2004;217:125-130
- 105) Faucheux BA, Bonnet AM, Agid Y, Hirsch EC. Blood vessels change in the mesencephalon of patients with Parkinson's disease. *Lancet* 1999; 353:981-982
- 106) Braak H, Ghebremedhin E, Rub U, Bratzke H, Del Tredici K. Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell Tissue Res* 2004; 318:121-134
- 107) Desai Bradaric B, Patel A, Schneider JA, Carvey PM, Hendey B. Evidence for angiogenesis in Parkinson's disease, incidental Lewy body disease, and progressive supranuclear palsy *J Neural Transm*. 2012 Jan;119(1):59-71.

- 108) Alonso G, Galibert E, Duvoid-Guillou A, Vincent A Hyperosmotic stimulus induces reversible angiogenesis within the hypothalamic magnocellular nuclei of the adult rat: a potential role for neuronal vascular endothelial growth factor. *BMC Neurosci* 2005;6:20.
- 109) Lindgren HS, Ohlin KE, Cenci MA Differential involvement of D1 and D2 dopamine receptors in L-DOPA-induced angiogenic activity in a rat model of Parkinson's disease. *Neuropsychopharmacology*. 2009 Nov;34(12):2477-88.
- 110) Heikkila R. E. and Cohen G. Evaluation of amantadine as areleasing agent or uptake blocker for H₃ -dopamine in rat brain slices. *Eur. J. Pharmacol.* 1972; 20, 156–160.
- 111) Fisher A., Biggs C. S. and Starr M. S. Effects of glutamate antagonists on the activity of aromatic L-amino acid decarboxylase. *Amino Acids* 1998;14, 43–49
- 112) Parsons C. G., Panchenko V. A., Pinchenko V. O., Tsyndrenko A. Y. And Krishtal O. A. Comparative patch-clamp studies with freshly dissociated rat hippocampal and striatal neurons on the NMDA receptor antagonistic effects of amantadine and memantine. *Eur. J. Neurosci.* 1996; 8, 446–454
- 113) Northover B. J. Effect of pre-treating rat atria with potassium channel blocking drugs on the electrical and mechanical responses to phenylephrine. *Biochem. Pharmacol.* 1994; 47, 2163–2169
- 114) Reis J., John D., Heimeroth A., Mueller H. H., Oertel W. H., Arndt T. and Rosenow F. Modulation of human motor cortex excitability by single doses of amantadine. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31, 2758–2766
- 115) Bido S, Marti M, Morari M. Amantadine attenuates levodopa-induced dyskinesia in mice and rats preventing the accompanying rise in nigral GABA levels. *J Neurochem.* 2011 Sep;118(6):1043-55.

116) Lindgren HS, Andersson DR, Lagerkvist S, Nissbrandt H, Cenci MA. L-DOPA-induced dopamine efflux in the striatum and the substantia nigra in a rat model of Parkinson's disease: temporal and quantitative relationship to the expression of dyskinesia. *J Neurochem.* 2010 Mar;112(6):1465-76.

117) Ohlin KE, Francardo V, Lindgren HS, Sullivan SE, O'Sullivan SS, Luksik AS, Vassoler FM, Lees AJ, Konradi C, Cenci MA. Vascular endothelial growth factor is upregulated by L-dopa in the parkinsonian brain: implications for the development of dyskinesia. *Brain.* 2011 Aug;134(Pt 8):2339-57