

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**3-NİTROPROPIYONİK ASİTLE HUNTINGTON HASTALIĞI OLUŞTURMADA
LOKOMOTOR AKTİVİTENİN GECE-GÜNDÜZ FARKI VE MEMANTİNİN
ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Dilek TÜMER

Tez danışmanı
Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU

ANKARA
Eylül 2009

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**3-NİTROPROPIYONİK ASİTLE HUNTINGTON HASTALIĞI OLUŞTURMADA
LOKOMOTOR AKTİVİTENİN GECE-GÜNDÜZ FARKI VE MEMANTİNİN ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Dilek TÜMER

Tez danışmanı
Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU

ANKARA
Eylül 2009

Eğitimimde ve tezimin hazırlamasında katkılarından dolayı
Sayın Prof. Dr. Nurettin Abacıoğlu'na,

Tezimin hazırlanması sırasında gerekli olan bilgilerin
sağlanmasında emeiği geçen Sayın Yrd. Doç. Dr. Orhan Uludağ'a,

Eğitimimde değerli katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Fatma
Akar ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa Ark'a,

Tezimin hazırlanması süresince bana desteklerini
esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Nilüfer N. Turan ve Sayın Öğr. Gör. Dr.
Bilgen Başgut'a,

Yardımlarından dolayı Ecz. Aysun Özdemir, Ecz. Nida
Edevler, Biol. Ayla Cihan ve Ecz. Sevtap Han'a,

TEŞEKKÜR EDİYORUM.

Ecz. Dilek TÜMER

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 11/11/2009

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı
Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
Gazi Üniversitesi Eczacılık
Fakültesi Farmakoloji
Anabilim Dalı
06330 Hipodrum-Ankara

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Gazi Üniversitesi
Doç. Dr. N. Kemal PERAN

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Gazi Üniversitesi
Yrd. Doç. Dr. M. Betül AYCAN

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Şekiller ve Resimler	iv
Tablolar	v
Grafikler	vi
I- GİRİŞ VE AMAÇ	1
II- GENEL BİLGİLER	3
II.1- Huntington Hastalığı	3
II.1.1- Epidemiyoloji	4
II.1.2- Huntington Hastalığında Klinik Bulgular	5
II.1.2.1- Motor Anomalileri	6
II.1.2.2- Psikiyatrik ve Kognitif Değişimler	7
II.1.3- Etiyoloji	8
II.1.4- Patogenez	10
II.1.4.1- Agregasyon	12
II.1.4.2- Protein etkileşimi	13
II.1.4.3- Apoptosiz	16
II.1.4.4- Eksitotoksisite	19
II.1.4.4.1- Mitokondriyal Disfonksiyon	19
II.1.4.4.2- Eksitotoksik Lezyonlar	19
II.1.4.5- Huntington Hastalığında Hayvan Modelleri	21
II.1.4.5.1-Transgenik Fare Modelleri	21
II.1.4.5.2- Diğer Modeller	23
II.1.4.5.3 3- Nitropropiyonik asit ile indüklenen Huntington Hastalığı modeli	23
II.1.5- Huntington Hastalığında Tedavi	26
II.2- Kronobiyoloji ve Huntington Hastalığı	31
II.2.1- Kronobiyolojik Tanımlar	31

II.2.2- Biyolojik Ritimler	33
II.2.3- Huntington Hastalığının Kronobiolojisi	36
II.2.3.1- Huntington Hastalığındaki Endokrin Değişimler	38
II.3- Memantin	39
III. GEREÇ VE YÖNTEM	42
III.1- Gereçler	42
III.1.1- Deney Hayvanları	42
III.1.2- Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışı	42
III.1.3- Kullanılan Aletler	43
III.2- Yöntem	43
III.2.1- Lokomotor Aktivitenin Değerlendirilmesi	47
III. 3- İstatiksel Analiz	49
IV. BULGULAR	50
V. TARTIŞMA	56
VI. SONUÇ	59
VII. ÖZET	60
VIII. SUMMARY	62
IX. KAYNAKLAR	64
X. ÖZGEÇMİŞ	96

ŞEKİLLER

Şekil 1: Huntington hastalığında majör nöronal kaybın gözlendiği beyin bölgeleri

Şekil 2: Farklı apoptotik yolların ana bileşenleri

RESİMLER

Resim 1: 3-NP ile indüklenen arka ayak distonisi

Resim 2: 3-NP ile indüklenen gövdesel distoni

Resim 3: Rotarod cihazı

TABLÖLAR

Tablo 1: Huntington hastalığındaki endokrin değişiklikler

Tablo 2: Deney gruplarına uygulanan günlük doz rejimi ve zamanı

GRAFİKLER

Grafik 1: Kontrol grubundaki gece – gündüz farkı değerlendirilmesi.

Grafik 2: 3-NP grubundaki gece - gündüz farkı değerlendirilmesi.

Grafik 3: 3-NP ve memantin uygulanmış grupta gece - gündüz farkı değerlendirilmesi.

Grafik 4: Gruplar arası gündüz farkı değerlendirilmesi.

Grafik 5: Gruplar arası gece farkı değerlendirilmesi.

I.GİRİŞ VE AMAÇ

Huntington hastalığı, genetik otozomal dominant nörolojik bir hastalık olup, koreiformik anormal hareketlilik, kognitif fonksiyonlarda yetersizlik ve psikiyatrik bozukluklarla kendini belli eden, ilerleyen striatal atrofi ile karakterize bir hastalıktır¹. Bu hastalıktaki en önemli klinik bulgulardan biri motor fonksiyonlardaki değişimlerdir. Hastaların el, yüz ve gövdelerinde zamanla distoni meydana gelir. Hastalar kısa zamanda kendi kendilerine iş yapabilme güçlerini kaybederler⁹.

Huntington hastalığının patofizyolojisine ilişkin kesin bir mekanizma ortaya koyulmamıştır; ancak, nörodejenerasyona uğrayan primer hasarlı bölgenin striatum olduğu bilinmektedir⁵. Mitokondriyal disfonksiyon^{93,94,95}, azalmış enerji metabolizmasına bağlı gelişen eksitotoksinite¹⁰¹, anormal protein agregasyonları^{50,51}, apoptozis^{89,90}, anormal protein etkileşimlerine bağlı transkripsiyon da düzenleme bozuklukları⁷⁴ bu hastalığın oluşumunda rol oynamaktadır.

Huntington hastalığında kesin bir tedavi yoktur ve çoğu zaman semptomatiktir. Santral sinir sisteminde birçok alanda nörotoksinite, glutamat seviyelerinde artışla birlikte NMDA tipi reseptörünün aktivasyonu¹²², bu bölgelerde aşırı Ca^{+2} birikimi veya GABA reseptörlerinin aktivasyonu ile oluşmaktadır^{196,198}. Bu mekanizmalarla oluşan eksitotoksitenin ortadan kaldırılması, Huntington hastalığında öngörülen tedavi yaklaşımlardan biridir.

Kronofarmakolojinin ve bağlamıyla kronotedavinin çalışma alanı, ilaç tedavisinin kinetik ve dinamiğinin endojen biyolojik ritimle ne kadar etkilendiğinin ve tedavi uygulama doz zamanının biyolojik zaman

düzenleyicilerini ve biyolojik ritim özelliklerini(seviye, genlik ve faz) nasıl etkilediğinin ölçülmesidir¹⁶¹.

Huntington hastalığının en önemli klinik bulgularından birisi olan istemsiz koreiformik hareketlerin gece daha sık olarak gözlemlendiği bildirilmiştir¹⁷⁷ ve bu da hastalığın tedavisinde kronofarmakolojik ve kronoterapötik yaklaşımın önemini düşündürmektedir.

Memantin, non-kompetitif bir NMDA antagonisti olup demans, Alzheimer¹⁹⁵ ve Parkinson¹⁹³ gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır¹⁹². Huntington hastalığında gözlenen eksitotoksisitenin altında yatan mekanizmalardan glutamat seviyelerine bağlı NMDA reseptör aktivasyonu¹²² göz önünde bulundurulduğunda, memantin Huntington hastalığında kullanımı umut verici görünmektedir.

Bu çalışmanın amacı, 3-nitropropionik asitle^{118,119} farelerde deneysel olarak oluşturulan Huntington hastalığında lokomotor aktivite açısından gece-gündüz farklılıklarının olup olmadığının araştırılmasıyla birlikte, 3-NP ile indüklenen Huntington hastalığı modelinde memantin etkilerinin ve bu etkilerin arasında gece-gündüz farkı olup olmadığının incelenmesidir.

II. GENEL BİLGİLER

II.1. Huntington Hastalığı

Huntington hastalığı, genetik otozomal dominant nörolojik bir hastalık olup, koreiformik anormal hareketlilik, kognitif fonksiyonlarda yetersizlik ve psikiyatrik bozukluklarla kendini belli eden, ilerleyen striatal atrofi ile karakterize bir hastalıktır¹.

Dünya Nöroloji Federasyonu tarafından kore, kendiliğinden oluşan, aşırı, düzensiz zamanlı ve ani gelişen hareketler olarak tanımlanmıştır². Kore kelimesinin kökeni Yunanca olup³, genetik yapısı 19. yüzyılda birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir⁴. 1374 yılında epidemik dans deliliği olarak tanımlanmış, 1500 yılında Paracelsus kore için santral sinir sisteminden kaynaklandığını öne sürmüştür, 1686 yılında Thomas Sydenham korenin bulaşıcı olduğunu ifade etmiş, 1832 yılında John Elliotson korenin genetik formunu tanımlamış⁵, 1872 yılında George Huntington, Huntington hastalığını herediter kore olarak adlandırmış ve daha sonra hastalığa onun ismi verilmiştir⁶.

Huntington hastalığı, ailesel lateral sklerozis ve Alzheimer hastalığında⁷ olduğu gibi nörodejeneratif bozukluklardan kaynaklanan ve patofizyolojisine genetik mutasyonların eşlik ettiği bir hastalıktır⁸. Bu bağlamda Huntington hastalığının etiyolojisine yönelik çalışmalar, söz konusu mutasyonun teşhis edilmesi, mutasyona uğrayan proteinin incelenmesi ve transgenik fare modellerinin geliştirilmesi üzerinde yoğunlaşmıştır⁹.

Huntington hastalığındaki genetik bozukluğun, kromozom 4' ün kısa kolunda bulunan IT15 ve/veya huntingtin (Htt) olarak adlandırılan gende lokalize olduğu ve bu genin 5' kodlayıcı bölgesinde CAG trinükleotit üçlüsünün aşırı tekrarına bağlı bir uzamadan kaynaklandığı bildirilmiştir¹.

Klinik semptomlar hastalığın başlangıcından itibaren ilk olarak hipokinezi ile devam eden hiperkinezi ile karakterize motor semptomlarla, daha sonra saldırganlık ve depresyonla kendini gösteren psikiyatrik rahatsızlıklar ve şiddetli kognitif bozukluklarla üç aşamalı olarak ortaya çıkar ve hızla ilerler. Hastalar kendi kendilerine iş yapabilme güçlerini zamanla yitirmekte ve ortalama onyediyedi yıl içinde demansın da derinleşmesiyle hastalık ölümle sonuçlanmaktadır¹⁰.

II.1.1.Epidemiyoloji

Huntington hastalığı, beyaz ırk popülasyonunda dengeli bir yaygınlık gösterir ve her 100.000 kişiden 5- 7'sinin bu hastalıktan etkilendiği bildirilmiştir⁵. Batı Avrupa ülkeleri ve Avrupalı göçmenlerin yaşadığı ülkelerde ise hastalığın yaygınlığı yaklaşık 1/10.000'dir¹⁰. Japonlarda bu oran her 100.000 için 0,5 olarak tespit edilmiştir ve diğer Asyalılara¹¹ göre oldukça düşüktür. Afrika nüfusunda bu oran, beyazlarla evliliklerin fazla olmasına rağmen daha az oranda seyredir^{12,13,14}.

II.1.2.Huntington Hastalığında Klinik Bulgular

Huntington hastalığında klinik semptomlar, motor fonksiyon bozuklukları, psikiyatrik rahatsızlıklar ve ilerleyen dönemde kognitif bozukluklarla karakterize edilir⁹.

Hastalık teşhis edilmesinden sonraki 17–20 sene içinde ölümlle sonuçlanır. Motor ve kavrama ile ilgili bozuklukların şiddetlenmesi sonucunda hastaların beslenme yetersizliğinden, disfaji veya aspirasyon güçlüğünden öldüğü tespit edilmiştir⁵.

Huntington hastalığı, kişiler sağlıklı iken ve hiçbir klinik anormallikler gözlenmezken 1–80 yaşları arasında herhangi bir zamanda semptomatik olarak ortaya çıkabilmektedir¹⁵. Bu sağlıklı periyodu hastanın motor kontrolünde, kavramada ve karakterinde oluşan kısmi değişikliklerin olduğu ve fark edilemediği prediyagnostik faz izlemektedir. Presemptomatik olarak adlandırılan bu iki safhada hasta kendinde oluşan değişimlerin farkında değildir¹⁶. Hastalar yaptıkları işin farkında olmaz ve unutkanlık gelişirken, iş yapma becerileri de azalır⁵.

Huntington hastalığı hastalarında intihara eğilim sık rastlanan bir bulgudur⁵. Hastalığın farkında olmayan ve artan etkinliğe bağımlı olarak intihar görülme sıklığı da artar. Prediyagnostik fazda hastalığın teşhisi ile bu oran düşer. Ancak hastalığın ilerleyen safhalarında görülen semptomların sıklığı ve oranına göre yeniden intihara eğilimin arttığı bildirilmiştir¹⁷.

Kavramadaki fonksiyon bozukluğu, uzun zamanlı hafızada yetersizlikler ve organizasyon, planlama, kontrol ve değişimlere adaptasyon gibi yönetimsel fonksiyonlarda zayıflamalarla karakterizedir^{14,18}. Zamanla bu özellikler daha da kötüleşir ve bunun yanı sıra depresyon^{18,19}, manik¹⁴ ve psikotik¹⁴ semptomlar gelişebilmektedir.

Huntington hastalığında diğer bir bulgu, istemli kas kasılmalarında yetersizliklerdir, pozisyon değişiminde veya bazen yeni bir pozisyona geçişte zorluklarla kendini belli eder. Özellikle el sıkışma sırasında sabit basınç uygulanmasında yetersizlik, Huntington hastalığının karakteristik bir bulgusudur ve sütçü kız kavrayışı olarak adlandırılmaktadır²⁰. Bu nedenle Huntington hastalığında erken teşhis için parmak vurma ritmi ve oranı faydalı bir gösterge olarak kabul edilmektedir⁵.

II.1.2.1.Motor Anomalileri

Huntington hastalığında motor bozuklukları, 10 -15 yıllık bir periyotta hiperkinetik formdan rijid sendroma doğru ilerlemektedir. En erken motor bozukluğu, göz hareketlerindeki anomalilerdir, bunu yüz diskinezilerinin gelişmesi izler ve ardından baş, boyun, gövde, kol diskinezileri ve en sonunda kore oluşmaktadır. Orta dereceli koreiformik hareketler, yerinde duramama, aralıklı aşırı hareketler ve ifadeler, ellerin sürekli hareketliliği, dans benzeri yürüyüşler ve özellikle el ve kollarda kuvvet kaybı ve aşırı hareketlilik olarak kendini gösteren hareketlerdir ve hastalığın en erken evrelerinde beklenmedik bir şekilde ortaya çıkarlar. Kore, genellikle işlerde el ve kolların kullanımında beceri kaybına neden olur. Ayak diskinezisi ile fark edilebilir yoğunluk ve büyüklükteki bu anormal

hareketler, hastaların gündelik yaşamında iş yapabilmelerini azaltmaktadır, hızla iş yapamaz duruma gelirler ve sosyal yaşamdan indirgenirler. Ayrıca hastalarda hastalığın başlangıç evresi boyunca bradikinezi gözlenmiştir⁹.

Huntington hastalığındaki yürüyüş anormallikleri, yürüme hızında azalma, geniş adımlarla yürüyüş ve azalmış adım uzunluğu ile ortaya çıkmaktadır. Yürüyüşteki bozukluk, erken fark edilebilirse teşhis ve tedavi de erken olabilecektir²¹. Pençe izleri yardımıyla yürüyüş uzunluğunun ölçümü, deney hayvanlarında yapılan çalışmada striatal veya substantia nigradaki dopaminerjik nigrostriatal yolağın nörodejeneratif fonksiyon bozukluğunun tespitinde belirleyici olarak kullanılmaktadır²².

Hastalık ilerledikçe koreiformik hareketlerin sıklığı ve şiddeti azalır, başlangıçtaki hiperkinetik sendromu, bradikinenin, rijiditenin ve distonin baskın olduğu hipokinetik sendrom izler⁹.

II.1.2.2.Psikiyatrik Ve Kognitif Değişimler

Huntington hastalığında gözlenen demans, yönetsel fonksiyonlar(planlama ve soyut düşünme gibi), fizikomotor fonksiyonlar ve kısa dönem hafızada değişiklikler ile karakterize kognitif bozukluklara,^{14,18} ön frontal kortikal lezyonların neden olabileceği gösterilmiştir²³.

Ayrıca Huntington hastalarında apati, depresyon¹⁸, manik¹⁴, obsesif kompulsif rahatsızlıkla karakterize psikiyatrik semptomlarda da değişiklikler oluşmuştur⁵.

Kaynak ne olursa olsun, birçok araştırmacı Huntington hastalığındaki rahatsızlıkların frontal kortekste görölen lezyonları andırdıklarını gözlemlemişlerdir ²⁴.

II.1.3.Etiyoloji

Huntington hastalığındaki genetik bozukluğun Huntingtin proteini kodlayan IT15 veya huntingtin genindeki CAG trinökleotid dizisinin aşırı tekrarından kaynaklandığı bilinmektedir¹. Bu genin 5' kodlayıcı bölgesinde CAG trinökleotid dizisi, normalde de tekrarlar gösterirken tekrarın 36'yı aşması hastalığın oluşumuyla sonuçlanır⁹.

Aşırı düzeyde CAG tekrarı, anormal poliglutamin uzantılarının oluşmasına yol açar ve poliglutamin tekrarlarının sayısı ile hastalığın başlangıç yaşı arasında korelasyon olduğu düşünölmektedir⁵. Poliglutamin tekrarlarının sayısının fazlalığı hastalığın erken başlamasına neden olabilmektedir²⁵. CAG tekrarı 40 civarında iken, hastalık 60 -70'li yaşlarda gelişirken, 50 tekrar taşıyan hastalarda hastalığın görölme yaşı 30 -35'tir. CAG tekrarı 100'e yakın ise hastalığın daha erken yaşta geliştiği bildirilmiştir. Ancak hastalığın semptomlarının ilerleme oranını CAG tekrar sayısına dayanarak tahmin etmek oldukça zordur⁹.

Poliglutaminler dimer, trimer ve oligomerler şeklinde agregere olmaya başlarlar, agregasyonun başlangıcı için 37 glutamin artığı gereklidir ve bu sayı 37'yi aştığında agregasyon olayı hızlanır. Poliglutamin agregasyonu, Htt'de selektif nöronal disfonksiyona yol açar⁵.

Huntingtin geni (Htt) 67 exondan oluşmaktadır. Polimorfik stabil olmayan tekrarlı CAG nükleotid dizisi bu genin ilk exonunda lokalize olmuştur²⁶ ve 348 kDA ağırlığındaki Htt proteinini kodlar. Htt proteinin vücudun her yerinde eksprese olduğu bilinmesine rağmen, fizyolojik rolü henüz bilinmemektedir. Ancak, veziküler taşıyım ve hücre transkripsiyonunda rol oynadığı düşünülmektedir²⁷. Genin 5' kodlayıcı bölgesinde CAG baz dizisi tekrarında artış, bu genin mutasyonuna yol açar. Mutant Htt'nin NMDA reseptörlerinin fosforilasyonuna yol açarak nöronal eksitotoksisiteye duyarlılığı arttırdığı saptanmıştır²⁸.

Uzamış mutant huntingtin üretimi ve agrege formları hücrelerin etkinliklerini azaltarak yıkımlarına neden olmaktadır²⁹. Mutant huntingtinin; transkripsiyonu³⁰, apoptozisi³⁰, mitokondriyal fonksiyonu³⁰, tümör supresyonunu³¹, nörotransmitter salıverilmesini³² ve aksonal taşıyımı³³ düzenleyen nükleer ve sitoplazmik proteinlerle etkileşerek bu fonksiyonları bozduğu bilinmektedir⁵. Mutant Htt(Mhtt) ve poliglutamin agregatları, Huntington hastalığı semptomlarının gelişmesinden önce oluşuyor olsa da bu patojenik oluşumların her zaman hücre fonksiyon bozukluğu veya hastalığa ilişkin belirteçler olmadığı³⁴ ve bazı transgenik fare modellerinde hastalığın başlangıcından sonra oluştuğu gösterilmiştir³⁵. Hücrelerin, bu patolojik oluşum sürecinde adaptif olarak gerek mutant huntingtin proteinini, gerekse agrege formunu protozomlarla veya otofajik vakuolizasyonla yok ettiği düşünülmektedir³⁰.

Huntington hastalığı, genetik bir bozukluktan dolayı hücrenin yaşamsal fonksiyonları için gerekli Htt genindeki fonksiyon bozukluğuna, ve/veya CAG mutasyonu sonucu oluşan mutant proteine bağlı olarak oluşmaktadır³⁶. Hastalığın oluşumunda klinikte başka faktörlerin rol oynadığına dair kesin bir kanıt yoktur³⁷.

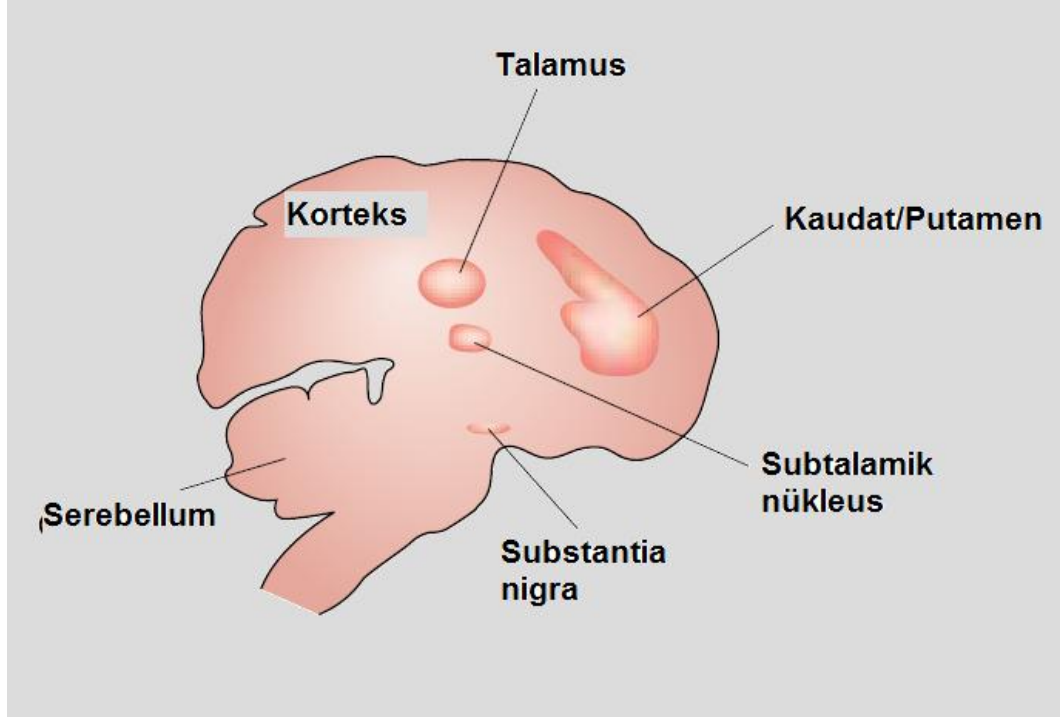
Hastalığın başlama yaşını veya semptomların ilerleme oranını da CAG uzunluğuna dayanarak tahmin etmek çok zordur⁹.

II.1.4. Patogenez

Huntington hastalığında meydana gelen nöropatolojik değişiklikler, kaudat ve putamende atrofi ve hücre kaybı ile karakterize edilir^{30,38}. Nörodejenerasyona en duyarlı nöronlar striatal nöronlardır^{5,9}. Striatal dejenerasyon çift yönlü olup dorsolateralden ventrale ve kaudalden rostral yöne ilerleme göstermektedir³⁹. Bu hastalıkta etkilenen diğer beyin bölgeleri substantia nigra, 3., 5. ve 6 kortikal katmanlar, hipokampusun CA1 bölgesi⁴⁰, paryetal lopta anguler girus⁴¹, serebellum'un Purkinje hücreleri⁴², hipotalamusun lateral tuberal nükleusu⁴³ ve talamusun parafasiküler kompleksidir⁴⁴.

Vonstattel ve arkadaşları, Huntington hastalığını taşıyan beyinlerde yaptıkları post-mortem çalışma sonrasında, hastalığı beyindeki dejenerasyon bölgesine ve şiddetine göre beş farklı derecede sınıflandırmışlardır. 0. derece; striatal lezyon oluşumu yok, 1. derece; sınırlı nöronal kayıp ve ışık mikroskobu ile görülebilen astrogliosisler, 2. derece; kaudat çekirdeği atrofisi, 3. derece; kaudat ve putamende atrofi, 4. derece; kaudat ve putamende daha şiddetli atrofi ile belirlemişlerdir³⁹.

Huntington hastalığında beynin nörodejenerasyondan en çok etkilenen bölgeleri Şekil-1'de gösterilmiştir.



Şekil 1: Huntington hastalığında majör nöronal kaybın gözleendiği beyin bölgeleri³⁶

Magnetik rezonans görüntüleme ile, hastalığın orta yaşlarda başlayan hiperkinetik formunda, T_2 -ağırlıklı MR sinyallerinde bir farklılık olmadığını gösterilmiş, ancak hastalığın erken yaşta başlayan rijid formunda striatumda T_2 -ağırlıklı MR sinyallerinde artış gözlenmiştir^{45,46,47}. MR görüntülenmesinde, striatal T_2 -sinyal yoğunluğundaki artışlar, sitotoksik ödemin varlığını ortaya koyar ve striatal dejenerasyonunun eksitotoksisite ile birlikte yer aldığı düşünülmektedir⁹. Ayrıca MR spektroskopisi kullanılarak, bazal ganglia ve serebral kortekste laktat seviyesinde ve kaslarda dinlenme fazında fosfokreatinin / inorganik fosfat oranında artış tespit edilmiştir⁴⁸.

Huntington hastalığı patogenezinde anormal protein agregasyonları^{50,51}, apoptozis^{89,90}, mitokondriyal disfonksiyon^{93,94,95} ve azalmış enerji metabolizmalarına bağlı gelişen eksitotoksisite¹⁰¹, anormal protein etkileşimlerine bağlı transkripsiyonda düzenleme bozuklukları⁷⁴ rol oynamaktadır.

II.1.4.1.Agregasyon

Huntington hastalığının deneysel modellerinde ve trinükleotit tekrarına bağlı rahatsızlıklarda olduğu gibi Huntington hastalarının beyinlerinde de çözünmeyen proteinlerin agregatları saptanmıştır. Bunlar, esas olarak agregasyona yatkın olan Mhtt'nin N-terminalindeki fragmanlarından oluşur^{50,51}. Bu agregatlar, ubiquitin proteozom sistemiyle uzaklaştırılmazlar^{52,53} ve bu sistemin fonksiyonunu değiştirebilirler⁵⁴. Hastalığın erken döneminde⁵⁵ tüm nöronal kompartmanlarda görülürler^{56,57} ve normal Htt'nin⁵⁸, transkripsiyon faktörlerinin⁵⁹ ve transport proteinlerinin parçalanmasıyla^{60,61} hücre fonksiyonlarını değiştirirler. Literatürde bu agregatların toksisitesine ilişkin çelişkili görüşler bulunmaktadır^{62,63}. Bazı araştırmacılar, daha küçük (oligomerik) agregatların daha büyük olanlardan daha toksik olduğunu öne sürmektedir⁶⁴. Buna ek olarak, agregatların toksisitesi agregatların biriktiği selüler kompartmanlara bağlı olabilir ve nöron uzantılarında nükleusa göre daha yüksek oranda bulunabilirler^{65,66}.

Oluşan agregatların toksik özellikler taşıdığını öne süren bu araştırma gruplarının yanı sıra, bu agregatlara ait cisimciklerin hastalığa ilişkin motor ve kognitif bozukluklarının başlangıcından sonra tespit edilmesi ve nöronal fonksiyon bozukluğu ile nöronal kaybın çözünmeyen

protein agregatları oluşmasından önce gözlemlenmesi⁶⁷ ise agregatların toksisitesine ilişkin kesin bir kanıt olmadığını düşündürmektedir

Şaperon (koruyucu) proteinlerinin⁶⁸, proteozom aktivatörlerinin⁶⁹, otofajiyi aktive eden ajanların⁷⁰ farmakolojik veya genetik aşırı ekspresyonlarının, Mhtt agregasyonunu azalttığı ve çeşitli modellerde nöroprotektif olabileceği bulgulanmıştır.

Huntington hastalığında, Htt geninin 5' ucundaki aşırı CAG tekrarlarının anormal poliglutamin uzantılarını oluşturduğu ve bu rezidülerin aşırı miktarda oluşmasının da Htt proteinin agregasyonuna yol açtığı bilinmektedir⁹. Bunun yanı sıra, Htt agregasyonu transglutaminaz enzimi tarafından katalizlenir ki glutamin rezidülerinin sayısındaki artış proteinin transglutaminaz için bir substrat haline gelmesine yol açar ve bu enzimin etkisiyle suda çözünmeyen agregatlar oluşur⁷¹. Transglutaminaz aktivitesini inhibe eden bir monoklonal antikorun kullanılmasıyla Htt agregasyonunun inhibe olduğunun gösterilmesi, bu enzimin agregasyonda majör rol oynadığının kanıtı olmuştur⁷². Huntington hastalarıyla yapılan çalışmalarda, doku transglutaminaz seviyelerinin sağlıklı bireylerdekine göre arttığı ve bu artışın özellikle striatumda lokalize olduğu saptanmıştır⁷³.

II.1.4.2. Protein Etkileşimleri

Huntington hastalığı gibi, poliglutamin kodlayan CAG bölgesindeki mutasyonun rol oynadığı nörodejeneratif hastalıkların ana nedeni selüler yollardaki uzamış poliglutamin alanlarıyla ilişkilidir. Bu

patojenik mekanizma uzamış poliglutamin alanları ile esansiyel proteinler arasındaki anormal etkileşimlerden kaynaklanmaktadır⁷⁴.

Mutant huntingtin gibi poliglutamin içeren proteinler, CREB (cAMP cevap elementi bağlayan protein) bağlayan protein(CBP) gibi transkripsiyon faktörleriyle etkileşerek transkripsiyonu artırır veya azaltır⁷⁵. Yaygın olan görüş, huntingtinin CBP'ye bağlanarak transkripsiyonal fonksiyonları koruduğu yönündedir⁶⁷. CREB aracılıklı gen transkripsiyonun azalması enerji metabolizmasında azalmaya yol açar, bu da ATP düzeyinin azalmasına neden olur⁷⁶.

Mutant huntingtin, antiapoptotik proteinlerin de transkripsiyon seviyelerini değiştirmektedir N-terminalinde poliglutamin içeren htt'nin, tümör süpresör p53 ile etkileşerek⁷⁷, CREB'yi ayırarak transkripsiyonu baskıladığı ve özellikle Bcl-2'nin downregülasyonuna⁷⁸ neden olduğu saptanmıştır.

Diğer huntingtinle etkileşen proteinler ise direkt enerji metabolizmasında yer alan proteinlerdir. Mutant huntingtinin, N-terminalinin glikolizis enzimi GAPDH ile etkileşmesi enzimin glikolitik aktivitesini azaltmaya ve buna bağlı olarak enerjinin de azalmasına neden olmaktadır. Enerji metabolizmasında azalma da eksitotoksisteye aracılık etmektedir⁷⁹.

Huntingtinle etkileşen bir diğer protein HAP-1'dir. Bu etkileşim, poliglutamin parçalanmasını arttırmaktadır. HAP-1 ve eksitotoksistede etkili bir enzim olan NOS' un birlikte lokalize olması, bu

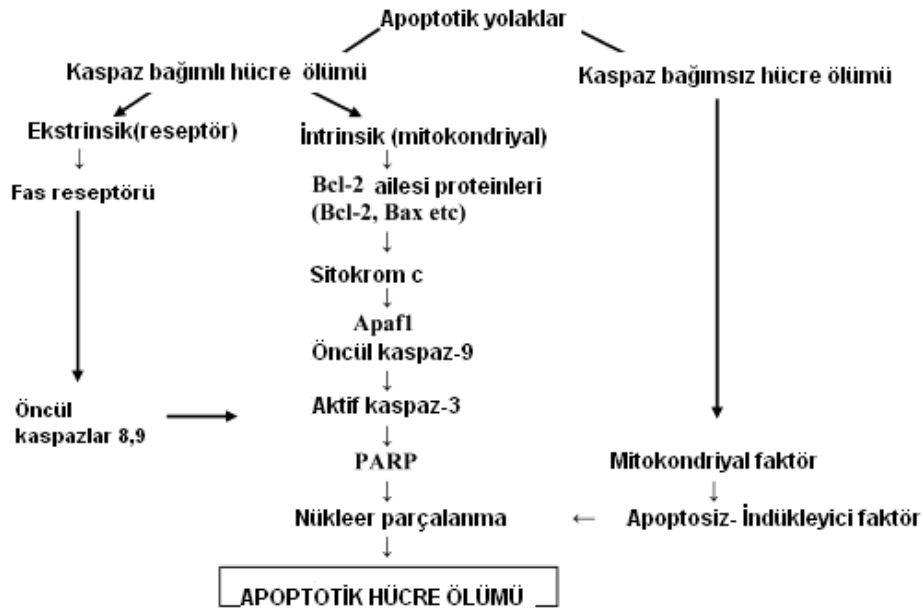
protein ve huntingtin arasındaki anormal bir etkileşimle nitrik oksit bağı striatal nöron ölümüne yol açmaktadır⁸⁰.

Huntingtin, HIP-1 proteini ile hücre iskeleti oluşumunda rol oynayan SLA2p proteini ile de etkileşmektedir. Poliglutamin tekrarlarının uzaması, HIP-1 ve huntingtin arasındaki etkileşimi azaltmaktadır. Bu da hücre iskeleti oluşumunda aksaklıklara yol açmakta, mitokondri gibi organellerin transferinde bozukluklar oluşturmakta, enerji metabolizmasını azaltmakta ve indirekt eksitotoksositeye yol açmaktadır⁸¹. Ayrıca HIP-1 proteinin, huntingtin proteini ile birleşerek agregasyonu arttırdığı bilinmektedir⁸².

II.1.4.3.Apoptozis

Apoptozis, programlı hücre ölümüdür ve DNA hasarından sonra veya büyüme süreci, immün regülasyon ve dokuların homeostazı sırasında oluşan hasarlı veya gerekenden fazla hücrelerin uzaklaştırılmasını sağlayan bir sistemdir⁸³

Apoptozisin uygun olmayan zamanlarda aktivasyonu, Huntington hastalığı'nda olduğu gibi artan DNA hasarı ve apoptotik hücrelerin görüldüğü nörolojik bozukluklara neden olabilmektedir⁸⁴.



Şekil 2 : Farklı apoptotik yolların ana bileşenleri⁸⁸

Memelilerde programlı ölüm iki ana unsurdan; kaspaz aktivasyonu ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğundan ileri gelmektedir⁸⁵. Mitokondriyal membran potansiyelinde oluşan düşüş ile reaktif oksijen

moleküllerinin oluşumu, mitokondriyal geçiş kapısının açılması⁸⁶ ve membran boşluğundan sitokrom c salınması beraberinde gelişen olaylardır. Sitosolik sitokrom-c, apoptozisi aktive edici faktöre (apaf)'a bağlanarak protein kompleksi oluşturur ve bu da kaspaz bağımlı olayları aktive eder⁸⁷.

Apoptotik yolak, kaspaz bağımlı hücre ölümü ve kaspaz bağımsız hücre ölümü olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Şekil 2). Kaspaz bağımlı hücre ölümü, ekstrinsik ve intrinsik yoldan oluşmaktadır. Kaspazlara bağımlı ekstrinsik yolak, Fas ligandının Fas reseptörüne bağlanmasıyla aktive olur. Öncül kaspazlar, kaspaz 8 ve 9 aktive olurken bunlarda kaspaz 3'ü aktive ederler⁸⁸.

Intrinsik yani mitokondriyal yolak ise mitokondriyal proteinlerin Bax ve Bcl-2 gibi etkileşimleriyle düzenlenmektedir⁸⁸. Bcl-2 ailesi üyeleri proapoptotik ve antiapoptotik olarak karşıt fonksiyonlu iki gruba ayrılmaktadır Antiapoptotik Bcl-2 ailesi üyeleri, Bcl-2 ve Bcl-X_L 'den oluşmaktadır. Proapoptotik Bcl-2 ailesi ise Bax (Bax ve Bak'ı içermekte) ve BH3(Bad, Bid ve Bim'i içermekte) alt ünitelerine ayrılmaktadır ve kaspazların aktivasyonuna neden olur⁸⁶.

Francis ve arkadaşları, 3-NP modeli ile indüklenen modelde Bax seviyelerinde artış, bcl-xl seviyelerinde ise değişiklik gözlenmezken, bunun bax /bcl-xl seviyelerinde dengesizliğe yol açarak, bax homodimerlerindeki artışla apoptozisi indüklediğini göstermişlerdir⁸⁹.

Huntington hastalığındaki nörodejenerasyonun apoptozisle bağlantılı olduğu düşünülmektedir, çünkü huntingtin ve N-terminalindeki

parçalarının ekspresyonu ile uzamış poliglutaminin apoptozisi indüklediği gösterilmiştir ve huntingtinin apoptozisin rol alan kaspaz 3 veya CPP32 olarak da bilinen apopainin substratı olduğu gösterilmiştir⁹⁰.

E. Hermel ve arkadaşlarının insan embriyonik böbrek hücre kültürü modelinde plasmid aracılıklı yapmış olduğu çalışmada, striatum ve kortekste kaspaz-2'nin ekspresyonunun arttığı ve Htt'nin anormal poliglutamin uzantısının kaspaz-2'ye bağlanması sonucunda oluşan sitotoksik ürünlerin nörotik dejenerasyona ve nöronal ölüme neden olduğu saptanmıştır⁹¹.

Jose C.Vis ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada kronik 3-NP uygulanması ile oluşturulan Huntington hastalığı modelinde, striatal lezyonlarda, lezyonun incelenen bölgesine göre Bax/Bcl-2 oranının değişkenlik gösterdiğini bulgulamışlardır. Lezyonun merkezinde lokalize dejenere nöronlarda, Bax artışı saptanırken, Bcl-2 ekspresyonu değişmemiştir ve bu da lezyonun merkezinde gözlemlenen 3-NP ile indüklenen hücre ölümünde apoptozisin rol oynayabileceğini göstermektedir. Buna zıt olarak lezyonun marjindeki nöronlarda ise Bax/Bcl-2 oranında artış eşit düzeyde gözlenmiştir ve bu da bu hücrelerde 3-NP ile indüklenen mitokondriyal hasarın ölümcül olmadığını ve apoptotik hücre ölümüne yol açmadığını göstermiştir⁹².

II.1.4.4.Eksitotoksisite

II.1.4.4.1.Mitokondriyal Disfonksiyon

Klinik⁹³, biyokimyasal⁹⁴ ve görüntüleme çalışmaları⁹⁵ Huntington hastalığında enerji metabolizmasının özellikle beyin ve kaslarda değiştiğine işaret etmektedir. Huntington hastalığındaki mitokondriyal disfonksiyonun, Mhtt ve mitokondriyal membranların direkt etkileşiminden kaynaklanabileceği, metabolik strese maruziyet sırasında Ca^{+2} homeostazının bozulmasıyla da indirekt eksitotoksisiteyi indükleyebileceği gösterilmiştir⁹⁶.

Mhtt'nin mitokondriyal biyogenezi ve oksidatif fosforilasyonu regüle eden transkripsiyonel ko-aktivatör PGC-1 α 'nın transkripsiyonunu baskıladığı saptanmıştır⁹⁷. Transglutaminaz aktivitesindeki anormal artışın, Huntington hastalığındaki mitokondriyal disfonksiyona aracılık edebileceği⁷³ ve Mhtt'nin ekstramitokondriyal selüler yolların modülasyonunda enerji metabolizmasını bozabileceği⁹⁸ gösterilmiştir.

II.1.4.4.2.Eksitotoksik Lezyonlar

Ekstibatör aminoasitlerin reseptörlerinin aşırı stimülasyonu, eksitotoksisiteye ve hücre ölümüne yol açar⁹⁹. Glutamat reseptörlerinden NMDA reseptör alt tipinin uyarılması bu fenomende anahtar rol oynar¹⁰⁰ ve NMDA reseptör agonistlerinin kemirgenlere uygulanmasının Huntington hastalığının klinik ve patolojik bulgularını taklit ettiği gösterilmiştir¹⁰¹ ve eksitotoksisitenin Huntington hastalığında nöronal ölüme rol oynadığı öne sürülmüştür.

Yapılan alışmalarda, Huntington hastalığında eksitotoksik n6ron 6l6m6n6n kortikal aferentlerden glutamat agonisti salıverilmesinden ve glutamat d6zeyindeki artıřtan¹⁰², glia h6cresine glutamat alımının azalmasından¹⁰³, postsinaptik NMDA resept6rlerinin aşırı duyarlılığından,¹⁰⁴ intrasel6ler Ca⁺² homeostazındaki değişikliklerden ve mitokondriyal disfonksiyondan kaynaklanabileceęi⁹⁶ g6sterilmiştir.

Huntington hastalığının transgenik fare modellerindeki striatal n6ronlarda h6cre y6zeyine doğru NMDA resept6r hareketinin hızlandığı ve bunun sonucunda da NMDA resept6r ekspresyonunun h6cre y6zeyi / h6cre içi oranının daha y6ksek olduğu saptanmıştır. Buna g6re değişen NMDA resept6r hareketinin NMDA resept6r6 ile ind6klenen sinyalin potansiyalizasyonunda ve Huntington hastalığındaki eksitoksisite de rol oynadığı 6ne s6r6lm6řt6r¹⁰⁵.

Huntington hastalığı, sadece kortikostriatal glutamerjik uyarı ile ilişkili değil, nigrostriatal dopaminerjik st6mulasyonun da rol oynadığı bir patolojidir¹⁰². Dopamin ve glutamat sinyal yolakları, eksitotoksisitenin ind6klenmesinde sinerjistik olarak etkileřir¹⁰⁶ ve striatumda y6ksek konsantrasyonda bulunan dopamin D₂resept6r aracılıklı mekanizmayla striatal n6ronların Mhtt'ye duyarlılığını arttırır¹⁰⁷.

Eksitotoksik striatal lezyonlar, motor ve frontal tip kognitif bozuklukları da içeren Huntington hastalığının davranışsal y6n6ne benzer semptomlar oluşturur. Eksitotoksik lezyon modelleri ve htt arasında, histolojik, biyokimyasal ve davranışsal benzerlikler, Huntington hastalığının eksitotoksik hipoteze dayandığını g6lendirmektedir. Bu nedenle transgenik hayvan modellerinin yanı sıra, aminooksiasetat, rotenon, MPP+, malonat, Mn⁺² , 3-asetil-bridin, 3-NP gibi çeşitli

mitokondriyal toksinlerin ve glutamat agonistlerinin uygulanmasıyla oluşturulan indirekt eksitoksik lezyon modelleri, Huntington hastalığının deneysel olarak modellenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır¹⁰⁸.

II.1.4.5. Huntington Hastalığında Hayvan Modelleri

Huntington hastalığında biyokimyasal, morfolojik ve fonksiyonel nöronal değişiklikler Mhtt ekspresyonu ile bağlantılı olduğu için transgenik modeller ve diğer modeller, bu hastalığa ilişkin gerek patofizyolojisinin ve gerekse tedavisinin incelenmesi için uygun modellerdir⁴⁹. Bütün bu deneysel modeller, hastalığın patolojisine ilişkin bilgilere ulaşılmasında model teşkil ederek, olayların nedenselliğine ait bulguları sergilemişlerdir.

II.1.4.5.1. Transgenik fare modelleri

Transgenik fare modellerinde, Mhtt'nin ilk exonunun veya genin tamamının fare genomuna yerleştirilmesiyle normal Htt'nin yanı sıra mutant genin ekspresyonu sağlanır¹⁰⁸. Htt'nin ilk başarılı fare modeli, R/6 fare modelidir. Bu fareler uzun CAG tekrarı (141-157) içeren insan Htt genindeki exon 1'in aşırı ekspresyonu ile üretilmiştir. R/6 transgenik farelerde Huntington hastalığı'ndaki fenotipik oluşumlar, motor değişiklikler, kognitif azalma, vücut ağırlığı kaybı, diyabet, tremor ve konvülsiyonlar gözlenmektedir. Motor hareketlerdeki bozukluklar, fareler 5-6 haftalıkken erken dönemde ortaya çıkar ve progresif özelliktedir¹⁰⁹.

Yapay maya kromozomu (YAC) transgenik fare modelinde tam uzunluktaki insan Mhtt geninin eksprese olduğu ilk deneysel hayvan modelidir. Hodgson ve arkadaşları normal (YAC18) ve mutant (YAC46 ve YAC72) Htt eksprese eden transgenik fareler üretmişler ve bu farelerin Huntington hastalığı olan hastalarda gözlemlenen birçok fenotipik değişiklikleri taşıdığını göstermişlerdir¹¹⁰.

Homozigot knockout fare modelinde, Htt geninin çıkarılmasının embriyonik letal olduğunun gösterilmesi¹¹¹ ve bu bulgunun hastalığın insanlarda ileri yaşlarda başlamasına zıt olması dolayısıyla, bu modelin Huntington hastalığı için iyi bir model olmadığı anlaşılmıştır. Ancak bu bulgu, htt'nin embriyonik gelişimde esansiyel rol oynadığına işaret etmektedir¹¹². Bunun yanı sıra selektif olarak beyin ve testiste inaktive edilmiş htt'nin fonksiyon kaybının gösterildiği knockout modeller ise huntington hastalığının patogenezi için daha uygun bulunmuştur¹¹³.

Knock-in fare modelleri, Htt geni hedeflenerek patojenik boyutta CAG tekrarlarının endojen htt genine yerleştirilmesiyle oluşturulmuştur. Knock-in farelerdeki fenotipler, Huntington hastalığına ilişkin presemptomatik dönemle ilgili bilgileri ortaya koymuştur. Bu hayvan modelinde Htt'nin erken döneminde santral sinir sisteminde oluşan reaktif gliosisler tespit edilmiştir^{108,114}.

Bir diğere fare modeli N-171-82Q ise Htt'nin N-ucu parçasında (exon 1 ve 2'de) 82 poliglutamin rezidüsü içermektedir. Bu modeldeki nöropatolojik bulgular, Huntington hastalığındakine çok benzemektedir¹¹⁵.

II.1.4.5.2 Diğer modeller

Huntington hastalığının indüklendiği diğer hayvan modelleri, *Drosophila* türleri ve *Caenorhabditis elegans*'da geliştirilen modellerdir ve fare modellerinde olduğu gibi bu modellerde de poliglutamin agregasyonunun gösterilmesi, hastalığın patolojisinden poliglutamin uzunluğunun sorumlu olduğuna işaret etmektedir^{116,117}.

II.1.4.5.3. 3- Nitropropiyonik Asit ile indüklenen Huntington Hastalığı modeli

3-NP, bitki (*Indigofera endecapylla*) ve mantar (*Aspergillus flavus*; *Artrinium*, *Astraglus*)¹¹⁸ türevi bir nörotoksin olup krebs siklusunun ve mitokondriyal kompleks II'nin elektron zincirindeki süksinat dehidrojenaz (SDH)'ın geri dönüşümsüz inhibitörüdür¹¹⁹.

3-NP'nin beyinde oluşturduğu ilk etkiler, Çin'de çocuklarda *Artrinium* mantarıyla kontamine şeker kamışının tüketilmesi sonucu keşfedilmiştir. 3-NP, bu mantarın metabolizasyonu sonucu oluşur. Kaudat ve putamende hücre ölümüne ve çocuklarda şiddetli distoniye neden olmaktadır¹²⁰.

Akut ve subakut 3-NP lezyon modellerinin karakteristiği, ekstrasriatal nörodejenerasyonun da eşlik ettiği geniş çaplı striatal lezyonların oluşumuyla uyumludur. Akut 3-NP modellerindeki nörokimyasal ve histolojik çalışmalar göstermiştir ki, striatal lezyonlar genellikle tüm striatumu etkiler ve globus pallidusu sarar¹²¹.

Akut 3-NP ile indüklenen striatal lezyonlar, GABA, substans P, somatostatin ve nöropeptid Y düzeylerindeki azalma ile birlikte gözlenirken, striatal dopamin konsantrasyonlarının değişmediği gözlenmiştir. Bu da dejenerasyonun eksitotoksikite benzeri mekanizmayla uyumludur¹²¹. Ayrıca 3-NP ile oluşan striatal dejenerasyondan, ATP düzeyindeki azalmanın ve sonuçta enerji metabolizmasındaki bozukluğun sorumlu olduğu gösterilmiştir¹²².

3-NP toksisitesinin ilk belirtileri mitokondriyal oksidatif fosforilasyon prosesinin akut yetmezliğini andırır(fosfo kreatin/I kreatin oranında azalma, laktat/ pürivat oranında artış). İlerleyen dönemde ATP/ ADP ve GTP/GDP oranları belirgin olarak azalır¹²³.

3-NP' nin GTP düzeyinde azalma ile birlikte doku transglutaminaz seviyelerinde artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bu da Huntington hastalığındaki striatal lezyonlarda tTG aktivitesi artışıyla uyumludur^{124,73}.

3-NP ile indüklenen eksitotoksikite modeli, Huntington hastalığında görülen davranış bozuklukları ve motor fonksiyon kayıplarının ve apoptotik mekanizmaya bağlı olarak nörodejenerasyonun da geliştiği bir deney modelidir¹²⁵. 3-NP'nin belirgin bir şekilde mitokondriyal enzim kompleksini inhibe ederek, reaktif hidroksil radikal bileşikleriyle oksidatif hasarın artışına ve sonuçta enerji metabolizmasında azalmaya yol açtığı bilinmektedir¹²⁶. Ayrıca glutamat seviyelerinde azalma saptanmıştır¹²⁷.

Akut 3-NP protokolü uygulanması ile sıçanların striatumunda elde edilen histopatolojik bulgular, Huntington hastalığında gözlenenlerden

farklıdır. 3-NP lezyonlu beyinlerde, striatal lezyon alanında tümüyle nöron kaybı söz konusudur ve lezyonun merkezi ile normal striatal doku arasında sınırlı bir alan bulunmaktadır¹²⁸. Akut 3-NP toksisitesi ise pallidum, hipokampus, talamus ve substantia nigra pars retikula gibi farklı beyin bölgelerindeki ekstrasriatal lezyonlarla karakterizedir¹²⁷. Bu farklı beyin bölgeleri, Huntington hastalığı taşıyan beyinlerde de dejenerasyona uğramasına rağmen, bu ekstrasriatal lezyonların Huntington hastalığı patolojisini ne kadar anımsattığı henüz bilinmemektedir.

3-NP, striatumun selektif dejenerasyonu sonucunda Huntington hastalığındakine benzer olarak spontan koreiformik ve distonik hareketler oluşturur¹²⁹ ve ayrıca arka ayakların kaslarını hipotonik yaptığı ve yürüyüş anormalliklerine neden olduğu gösterilmiştir²¹.

3-NP uygulanmasıyla indüklenen kronik lezyonlar, akuta göre daha fazla hücre ölümüne neden olur ve diffüz hücre kaybı etkilenmemiş striatum alanından lezyonun merkezine doğru artar. Lezyonun merkezinde, belirgin fakat kısmi nöron kaybı oluşurken bu olaya orta düzeyde astrogliosis, sitokrom oksidaz aktivitesinde azalma eşlik eder. Kronik uygulama sonucunda elde edilen histopatolojik bulgularda, Huntington hastalığındakine benzer olarak striatal kalbindin-D28k-pozitif spin nöronlarda kayıp, striatal NADPH-diaforoz pozitif ve kolinerjik internöronların da azaldığı saptanmıştır^{121,128}.

3-NP'ye verilen cevap, kullanılan hayvan türüne ve ırklara göre değişiklik gösterir.¹³⁰ Sıçanlar 3-NP uygulanmasına farelerden daha duyarlıdır. Farklı sıçan türleri arasında ise Fischer sıçanlar toksisiteye en duyarlıdır. Bununla birlikte bu sıçanlar, 3-NP'nin neden olduğu hasarın kontrol edilmesinin güçlüğü nedeniyle uygun değildir. Buna zıt olarak

Fischer sıçanlardan daha az duyarlı olan Lewis sıçanları, 3-NP nörotoksisite modeli için idealdir, çünkü 3-NP'ye karşı oluşan cevap daha stabildir ve bu sıçan türünde davranışsal değişiklikler ve lezyonlar gözlenir¹³¹. Wistar ve Sprague Dawley sıçanlarda bu ajana duyarlıdır¹³⁰.

3-NP modeli uygulama zamanı ve dozuna bağlı olarak Huntington hastalığının hiperkinetik ve hipokinetik semptomlarını oluşturabilmekte, böylece Huntington hastalığının hem erken hem de geç fazının değerlendirilmesine imkan sağlamaktadır. İlk 2 dozdan sonra, sıçanlarda hiperkinetik semptomlara benzer semptomlar oluştururken, 4 dozdan fazla uygulanması hipokinetik benzeri semptomları indükler¹³².

Düşük dozlarda (10mg/kg/gün, 3–6 hafta) 3-NP, kronik olarak Huntington hastalarında gözlenen karakteristiklere benzer olarak, metabolik değişiklikleri indükler¹²¹. Maymunlarda dudak distonisi ve koreiformik hareketlere neden olurken, daha uzun süre uygulandığında (4 ay) spontan diskinezi ve distoniyi tetiklediği gösterilmiştir¹²⁵. Ayrıca maymunlarda Huntington hastalığındakine benzer olarak kognitif bozukluk saptanmıştır¹³³.

II.1.5.Huntington Hastalığında Tedavi

Eksitotoksite, mitokondriyal disfonksiyon, apoptozis, azalmış enerji metabolizması ve gen transkripsiyonunda bozukluklar gibi Huntington hastalığı patogenezinde rol oynayan olayların engellenmeye çalışılması veya ortadan kaldırılması amacıyla birçok ajan, deneysel Huntington hastalığı modellerinde denenmiştir. Ancak deneysel modellerde bu ajanlar faydalı bulunmasına rağmen, klinik olarak kullanımda terapötik değerleri tam olarak bilinmemektedir.

Minoksisilin, ikinci jenerasyon tetrasiklinlerden biri olan antiinflamatuvar etkinliğe de sahip bir antibiyotiktir¹³⁴. Huntington hastalığının deneysel modellerinde minoksisilin ile yapılan çalışma sonuçları çelişkilidir. R6/2 transgenik fare modelinde minoksisilin kaspaz aktivasyonunu ve NOS'u inhibe ederek rotarod performansını iyileştirdiği ve yaşam süresini arttırdığı gösterilirken¹³⁵, Smith ve arkadaşlarının 2003 yılında aynı hayvan modelinde yaptığı çalışmada minoksisilin hem de doksisisilin¹³⁶ ve aynı yıl Elsa ve arkadaşları tarafından 3-NP ile indüklenen Huntington hastalığı modelinde yapılan çalışmada ise minoksisilin koruyucu etkinliğinin olmadığı gösterilmiştir¹³⁷.

Huntington hastalığında en çok duyarlı olan striatal nöronlara glutamat uygulanması ile ona bağlı apoptozisin oluşumu ve folik asit, gabapentin, lamotrijin, memantin ve riluzol'un koruyuculuğu incelenmiştir. Folik asit, gabapentin ve lamotrijin nöronlarda koruyucu etki oluşturmazken, memantin ve riluzol nöronları apoptozise karşı korumuştur¹³⁸.

Glutamat antagonisti Riluzol'un doza bağımlı ve geri dönüşümlü olarak kortikostriatal alanlardan glutamerjik sinaptik yer değişimini ve glutamata bağlı depolarizasyonu azalttığı göstermiştir¹³⁹. Riluzol glutamata bağlı eksitotoksisteyi de azaltmaktadır¹⁴⁰. Bu da riluzolün striatal nöronlarda dejenerasyona karşı koruyucu etkili olabileceğini düşündürmektedir¹³⁹.

Mitokondriyal depolarizasyonu ve ROS oluşumunu inhibe ederek hücreleri apoptozisten koruduğu gösterilen ve esas olarak kolestatik karaciğer rahatsızlıklarında kullanılan Ursodeoksikolikasin

konjuge ürünü taurodeoksikolik asidin Huntington hastalığında hücre ölümünü engellediği gösterilmiştir ve bu koruyucu etkisi nedeniyle Huntington hastalığının tedavisinde kullanabileceği öne sürülmüştür¹⁴¹.

Oksidatif stres artışı, Huntington hastalığı gibi birçok nörodejeneratif hastalığın patofizyolojisinde yer alan mekanizmalardan biridir. Oksidatif stresin önlenmesinin buna bağlı dejenerasyonda faydalı olacağı düşünülerek, birçok antioksidan bileşik Huntington hastalığının deneysel modellerinde kullanılmıştır. Sesamol, Hindistan'da geleneksel sağlık yiyeceği olup antioksidan akvitesinden dolayı tüketilmektedir¹⁴² ve aterosklerozis, hiperlipidemi, hipertansiyon, antikanser ve yaşlanmayı önleyici olarak birçok hastalıkta antioksidan enzim düzeylerini arttırarak etkili olduğu gösterilmiştir¹⁴³.

Sesamol, 3-NP ile indüklenen lipid peroksidasyonunu ve nitrit düzeylerindeki artışı baskılarken¹⁴⁴, ksantin oksidaz enzimini inhibe ederek oksidatif stresi azalttığı saptanmıştır¹⁴⁵. Buna ek olarak striatum, korteks ve hipokampal bölgelerde mitokondriyal enzim aktivitelerini arttırdığı gösterilmiştir¹⁴⁴.

Bir diğer antioksidan ajan olan taurininde striatal malondialdehit düzeylerini azalttığı için Huntington hastalığında faydalı olabileceği gösterilmiştir¹⁴⁶.

Huntington hastalığının nedeninde rol oynadığı düşünülen önemli etken enerji metabolizmasında azalmadır. Magnetik rezonans görüntüleme, Huntington hastalarının beyinlerinde oksidatif enerji azalmasını ve artan laktat konsantrasyonunu ortaya koymuştur. Tedavide ilk sağlanması gereken striatum ve kortikal dejenerasyonun engellenmesidir. Nörotrofik faktörler; sinir büyüme faktörü, beyin kaynaklı

nörotrofik faktör nörotrofin-3(BDNF), nörotrofin-4/5 ve siliyer nörotrofik faktör^{147,148,149} ve GDNF'nin¹⁵⁰ hayvan modellerinde striatal nöronları dejenerasyona karşı koruduğu gösterilmiştir. Nörotrofik faktörler, Huntington hastalığında umut verici gibi gözükseler de uygulamalarının güçlüğü kullanılmalarını kısıtlamaktadır¹⁵⁰.

Huntington hastalığında enerji metabolizmasındaki aksaklığın önlenmesindeki bir diğer yaklaşım, oksidatif fosforilasyonun artırılmasıdır ki¹⁵¹ bu amaçla koenzimQ ve nikotinamid birlikte kullanılmıştır. İn vivo olarak yapılan çalışmada, bu ajanların artmış laktat seviyelerini azaltarak mitokondriyal toksin tarafından oluşturulan striatal lezyonları iyileştirdiği saptanmıştır¹⁵¹. Diğer bir ajan da kreatindir, o da koenzimQ10 gibi enerji üretimini artırarak ATP seviyesini yükseltmiş¹⁵² ve koruyucu etkili bulunmuştur. Kreatinin ve koenzimQ'nun kombine kullanıldığı 3-NP ile indüklenen sıçan modelinde ise her iki bileşiğin birlikte uygulanmasının lipid peroksidasyonunu ve DNA oksidasyonunu azalttığı, endojen antioksidan glutatyon seviyelerini ve glutatyon/ glutatyonun okside formu arasındaki oranı koruduğu gösterilmiştir. KoenzimQ₁₀ elektron transfer zinciri mekanizmasını iyileştirerek ve antioksidan olarak etkili iken, kreatin, fosfokreatini artırır ve enerji üretimi azaldığında depo olarak etkili olmaktadır¹⁵³.

Gen transkripsiyonundaki değişiklikler Huntington hastalığının ilk evrelerinde oluşmaktadır. Bu patolojik durumda poliglutamin uzantılarının sayısının artışının neden olduğu proteinlerin agregatları rol oynar. Poliglutamin uzantılarına bağlı nöronal hasarda, histon deasetilaz (HDAC) inhibitörlerinin kullanılmasının faydalı olduğu düşünülmektedir. Histon deasetilaz inhibitörleri histon deasetilazı inhibe ederek transkripsiyonu arttırmaktadır. Bir HDAC inhibitörü olan suberonilid hidroksamik asitin (SAHA), R6/2 farelerde motor bozukluklarını

düzeltiltiği gösterilmiştir¹⁵⁴. Histon asetilasyonunu artırarak Huntington hastalığında gen ekspresyonunda artışa yol açan Fenil bütirat uygulanmasının da Huntington hastalığının transgenik fare modelinde nöroprotektif etkileri gösterilmiştir¹⁵⁵.

Ayrıca glikojen sentaz kinaz-3 enzim inhibitörü Lityum'un β - katenin'e bağılı olarak hücreyi poliglutamin toksisitesinden koruduğu saptanmıştır. β —katenin uygulanmasının, transkripsiyon yolağının korunması ve böylece tedavide kullanılabileceğini düşündürmektedir¹⁵⁶.

Mitramisin, *Streptomyces agrillaceus* bakterisi tarafından üretilen oraleik asit tipinde hiperkalsemi ve birçok kanser tipinde kullanılan bir antibiyotiktir¹⁵⁷. Mitramisin histon metilasyonunu azaltarak transkripsiyonel baskılanmayı engellemiştir¹⁵⁸.

Huntington hastalığında oluşan eksitotoksitenin glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonu sonucu oluştuğu bilinmektedir. NMDA reseptör antagonisti ilaçlar da özellikle Parkinson, Alzheimer gibi eksitotoksositeye bağılı nörodejeneratif hastalıklarda kullanılmaktadır. Bunlardan memantin hastalığın ilerleyişini yavaşlattığı gösterilmiştir¹⁵⁹.

Monoamin yapıdaki nörotransmitterlerin sitozolden sinaptik veziküllere transportunu sağlayan veziküler monoamin taşıyıcı-2 (VMAT-2) proteinini selektif olarak inhibe eden bir ilaç olan Tetrabenazin (Xenazin®), Huntington hastalığında görülen korenin tedavisi için FDA tarafından 2008 Ağustos'ta ilk ilaç olarak onaylanmıştır.

II.2. Kronobioloji Ve Huntington Hastalığı

II.2.1- Kronobiyolojik Tanımlar

Homeostazi, içsel biyolojik çevrenin sabitliği ile ilgilidir, 19. yüzyılın sonunda Fransa'da Claude Barnard ve 20. yüzyılın başlarında Amerika'da Walter Cannon tarafından yapılan araştırmalarla tanımlanmıştır¹⁶⁰.

Tek zamanlı günlük çalışmalar 24 saat boyunca biyolojik zaman gibi sirkadiyen fazın sadece tek parçasını tariflemiştir. Bugünse oldukça geniş literatür dökümanları biyolojik işleyişlerin ve fonksiyonların sabit olmadığını, çeşitli periyotların belirgin ritimleriyle açıklanan zaman içi tahmin edilebilir tarzda olduğunu ortaya koymuştur¹⁶⁰.

Kronobiyoloji, biyolojik ritim ve biyolojik zaman düzenleyici mekanizmaları inceleyen bilim dalıdır¹⁶¹. Biyolojik ritim, endojen kaynaklı kendi kendini besleyen osilasyondur. Periyod, seviye, genlik ve faz karakterleriyle tanımlanmıştır¹⁶⁰.

Periyod

Tek bir siklusun tamamlanması için gerekli zamandır. Kısa periyotlu ritimler bir saniye veya daha çok, oldukça yaygın ritimlerdir; merkezi ve otonomik sinir sisteminde yüksek frekanslı elektriksel impuls osilasyonları ve nöroendokrin sistemde yüksek frekanslı pulsatil sekresyonlar örnek olabilir. Orta derece periyotlu ritimler birkaç saat kadar kısa olabildiği gibi 6 gün kadar uzun olabilmektedir. Bu kategoride

ultradiyen (< 20sa), sirkadiyen (~24sa), ve infradiyen (>28sa) ritimleri içermektedir. Son olarak uzun periyotlu ritimler bir hafta, ay ve yıl içindeki osilasyonlardır¹⁶⁰.

Seviye

Seviye ritmik değişikliğin olduğu d6ngü sayısıdır. Sirkadiyen ritimler zaman içi tahmin edilebilir biçimdeki osilasyonlardır. Sirkadiyen ritimlerin seviyesi genç bayanlarda bir ay boyunca, kadın ve erkeklerde bir yılın üzerinde osilasyonlardır¹⁶⁰.

Genlik

Tahmin edilebilir zaman içindeki değişkenliğin biyolojik ritim özelliklerine rağmen büyüklüğünün ölçümüdür. Ortalama değerden sapmaları içermektedir. Bazı biyolojik ritimler, çok yüksek genliğe sahiptir. Ritimlerin genliği, yaşla deęişmektedir¹⁶⁰.

Faz

Spesifik olayların zaman skalasına uyan pik ve dalga değerleri olarak ritmin ölçülmesidir. Örneğin serum kortizol konsantrasyonunun yüksek genlik sirkadiyen ritim fazı, saat sabah 8 sularında 20µg/dl iken gece zamanlı uyku zamanında bu oran 0µg/dl 'ye düşer¹⁶⁰.

II.2.2-Biyolojik Ritimler

Biyolojik ileti ve iletişim, memeli organizmasında merkezi sinir sistemi, sempatik ve parasempatik kolları ile otonomik sinir sistemi, endokrin sistem, adipoz doku gibi periferal endokrin dokuları, intestinal sistem, kas sistemi ve immün sistem ile gerçekleşmektedir. Tüm bu öğeler zaman yapılı ve fonksiyonel çok frekanslı ritmik alanlar sergilemektedir¹⁶².

Sirkadiyen ritim, suprakiazmatik nükleusta bulunan (SCN) genetik bir üst saat tarafından kontrol edilmektedir¹⁶³. Spesifik ritmik aktiviteler, saat genleri olarak adlandırılan per^1 , per^2 , per^3 , $bmal$, $clock$ ve CRY ve diğerleriyle birlikte pineal bezden melatonin salıverilmesini ve böylece merkezi zaman düzenleyici mekanizmayı aktifleştirirler. Biyolojik zaman düzenleme, farklı ve önemli siklik fenomen sergileyerek zaman içinde çevreye adaptasyonu organize eder¹⁶⁰.

Melatonin pineal hormon olup, aydınlık karanlık değişiminde mevsimsel değişimler ve sirkadyen ritimler için düzenleyici olan bir haberci görevi üstlenmektedir. Metoksi-indol türevi olup kolay çözünürlüğüyle hücre membranlarından¹⁶⁴ ve kan beyin bariyerinden geçebilmektedir¹⁶⁵. Işık melatonin salınımını suprese ederken, günün karanlık evresinde salınmaktadır¹⁶⁶. Pineal bezde depolanmamakta, plazma konsantrasyonları direkt sentez ve salınımını yansıtmaktadır. Maksimum plazma konsantrasyonuna sabah 3 -4 civarında ulaşmaktadır¹⁶⁷.

Endokrin sistemdeki çoklu sirkadiyen bileşenleri, melatonin dışında prolaktin, tiyotropin salıverici hormon, tiyotropin stimule edici hormon ve tiroid hormonunu içeren; hipotalamik-hipofiz-tiroid eksenini, kortikotropin salıverici hormon, adrenokortikotropik hormon ve

glukokortikoidleri içeren; hipotalamo-hipofiz-adrenal eksen, somatotropik eksen ve gonadotropik eksen yer almaktadır¹⁶⁷.

Senkronizör, periyod ve fazı etkileyen çevresel zaman imgesidir. Sirkadiyen saatlerin kalıtsal periyotları 24 saatle sınırlı değildir¹⁶⁸. Birçok kişide, 24 saatten biraz fazla iken, bazılarında yirmidört saatten biraz kısadır. Uyku–uyanıklık ve çevresel aydınlık–karanlık senkronizör siklusları biyolojik ritimlerin kaynağı ya da nedeni değildir, endojenlerin faz ve periyotlarını düzenler¹⁶⁰.

Sirkadiyen zaman yapısının bütünlüğü biyolojik ve düşünsel fonksiyonlarda hatta sağlığın devamlılığında kritik rol oynar. Uyku–uyanıklık modelinin değişimi veya gece boyunca düzenli ışık alma, melatoninin sentezi ve salıverilmesi sirkadiyen ritmini değiştirir veya çoğunlukla bozmaktadır. Bu da uyku/durum bozuklukları, peptik ülser, koroner kalp rahatsızlığı veya kadınlarda kolorektal ve meme kanserlerinin oluşumu gibi daha büyük etkilere yol açmaktadır¹⁶⁹.

Birçok biyolojik ritim çalışmalarının sonucu, insan yapısının organizasyonunun aydınlatılmasına yardımcı olmuştur. Bunlardan biri, insan sirkadiyen zaman bileşenlerinin 24 saatlik ritimlerini pik olarak saat benzeri diyagrama aktarılması olmuştur¹⁶⁰.

Uyku bozuklukları sirkadiyen zaman düzenleyici sisteminin anormalliklerinin göstergesidir. Gecikmiş uyku fazı sendromu, uyku başlangıcı şiddetli uykusuzlukla karakterizedir. Bu sendromda mekanizma gün ışığına olan anormal hassasiyettir. Uyku - uyanıklık siklusunu kontrol eden saatin yeniden düzenlenmesi ile sirkadiyen ritim faz cevabını daha sonraya erteler¹⁷⁰.

Kronofarmakolojinin ve bağlamıyla kronotedavinin çalışma alanı, ilaç tedavisinin kinetik ve dinamiğinin endojen biyolojik ritimle direkt etkilendiğinin ve tedavi uygulama doz zamanının biyolojik zaman düzenleyicilerini ve biyolojik ritim özelliklerini (seviye, genlik ve faz) ne kadar etkilediğinin ölçülmesidir¹⁶¹.

Kronokinetikler, ilacın uygulama zamanını ritime bağlı olarak absorpsiyon, dağılım, metabolizasyon ve eliminasyonundaki değişikliklerini tanımlar¹⁷¹. Gastrointestinal kanaldaki pH'nın sirkadiyen ritmi ilacın parçalanmasını, gastrik boşalma, motilite ve kan akımı sirkadiyen ritimleri ilacın absorpsiyonunu etkileyebilmektedir. Karaciğer kan akımı ve enzimatik aktivitedeki sirkadiyen ritimler, ilacın metabolizasyonunu etkilerken, böbrek kan akımı, glomerüler filtrasyon ve tübüler fonksiyon sirkadiyen ritimler ilacın eliminasyonunu etkilemektedir¹⁷².

Kronodinamikler ilacın etkisindeki değişiklikleri uygulama zamanının ritime bağlı olarak tanımlamaktadır¹⁷¹. Uygulama zamanı farklılıkları serbest – bağlı ilaç bölümlerini, ilaç–spesifik reseptörlerinin sayı ve konformasyonlarını, ikincil haberci ve iyon kanalları dinamiklerini, etkiler¹⁷².

Kronotoksikoloji, kronodinamiklerin bir sonucudur, ilaç uygulama zamanını ritime bağlı olarak advers etkilerinin görülme ve şiddetini, bu nedenle hastaların tedaviye olan intoleransını etkiler¹⁷¹. İlaçlar terapötik etkinliklerinin yanı sıra, advers etki riskleri de taşımaktadır. Bu bağlamda ilaç uygulama zamanı farklılıkları güvenlik için önemlidir¹⁶⁰.

Sirkadiyen ritim yapıları, gece ve gündüzün farklı biyolojik zamanlarında infüzyon, enjeksiyon inhalasyon veya epidermal uygulanan pek çok çeşit ilaç sınıfının kinetik ve dinamiğini etkilemektedir. Bir biyolojik

zamanda uygulanan etkin ve güvenli olarak bilinen ilaç, bir diğer zaman da etkisiz ve güvenli olmayabilir. Bu fenomen prednisolon, triamsinolon, metilprednisolon gibi glukokortikosteroidlerin uygulanmasında gözlemlenmiştir. Bu ilaçlar sabah ve öğleden sonraki ilk evrede uygulandığında antiinflamatuvar etkileri çok güçlü olurken advers etki riskleri oldukça düşüktür¹⁷³.

II.2.3- Huntington Hastalığının Kronobiyojisi

Alzheimer, Parkinson ve Huntington hastalığı gibi progresif nörodejeneratif hastalıkların ortak karakteristiği şiddetli uyku bozukluklarıdır^{174,175}. Nörolojik hastalığa bağlı uyku bozuklukları, sadece Huntington hastaları için değil bakıcıları için de bir problemdir¹⁷⁶. Huntington hastalığında uyku kalitesinin azalması, sık gece uyanmalarıyla karakterizedir ve elektroensefalografik anormalliklerden kaynaklanmaktadır¹⁷⁷. Şiddetli anksiyete ve aşırı koreiformik hareketler uykudan uyanma sırasında bildirilmiştir ve her iki semptom da bu hastalıktaki uyku bozukluğunun primer nedeni olarak bilinmektedir¹⁷⁸. Huntington hastalığında nörodejenerasyon için primer bölge striatum olmasına karşın hipotalamusta da nörodejenerasyon bildirilmiştir¹⁷⁹. Hipotalamus, SCN'nin sirkadiyen pacemakerıdır ve uyku-uyanıklık siklusunda düzenleyici rol oynar. Bu da Huntington hastalığındaki uyku bozukluğunun olası nedeninin hipotalamik disfonksiyon olabileceğini düşündürmektedir. Bu rahatsızlık, Huntington hastalığı'nın transgenik bir modelinde(R6/2) çalışılmıştır. Gündüz aktivitesi artırılmış ve gece aktivitesi düşürülerek tam sirkadiyen davranış bozukluğu oluşturulmuş R/6 transgenik fare modelinde davranış bozukluğuna sirkadiyen saat genleri SCN'deki mBall1 ve mPer2 ekspresyonundaki bozukluğun eşlik ettiği gösterilmiştir, ayrıca motor korteks ve striatumdaki gen ekspresyonunun R6/2 farelerde suprese edildiği de gösterilmiştir¹⁸⁰.

SCN'den dorsomedial hipotalamusa doğru uzanan ve uyanmayı kontrol eden sirkadiyen yolak, oreksinerjik nöronları içerir¹⁸¹. Ve bu nöronlarda poliglutamin tekrar geni eksprese eden farelerde, uyku bozuklukları bildirilmiştir¹⁸².

Huntington hastalığı hastalarında, oreksin nöronlarındaki kayıp kadar R6/2 farelerde narkolepsi-benzeri davranışın dereceli gelişiminde oreksin içeren nöronların progresif ölümü saptanmıştır¹⁸³. Bu bulgular Huntington hastalığından SCN'deki fonksiyon bozukluğunun sorumlu olabileceğini düşündürmektedir¹⁸⁰.

Huntington hastalığında, bileğe yerleştirilen Actiwatch-Neurologica[®] sistemi kullanılmasıyla anormal hareketler ve uyku bozukluğunun derecesi objektif olarak değerlendirilmiştir. Bunun sonucunda uyanıklık periyodunda Huntington hastalığı hastalarında çeşitli hareketlilik parametrelerine ilişkin total ve maksimum aktivite düzeyinin kontrollere göre anlamlı olarak fazla olduğu ve yüksek ivmeli hareketlerde de daha uzun süre kalabildikleri saptanmıştır. Uyku periyodunda ise kontrole göre aktivite değerlendirilmesi açısından aradaki farkın uyanıklık periyodundan belirgin olarak büyük olduğu da belirlenmiştir. Bu fark, Huntington hastalığı hastalarının gece sık uyanmalarından kaynaklanabilir. Ancak Huntington hastalığı uyku skalası ile Epworth uyku skalası karşılaştırıldığında uyku bozukluğu derecelendirilmesinde çok büyük bir fark görülmemiştir. Hastaların çoğunluğu, geceleri istemsiz hareketleri sebebi ile uyanmadıklarını veya çok seyrek uyandıklarını iddia etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, hastaların geceleri gündüze göre daha fazla istemsiz koreiformik hareketlerde buldukları gözlemlenmiştir¹⁸⁴.

II.2.3.1- Huntington Hastalığındaki Endokrin Değişimler

Huntington hastalığında nöroendokrin değişikliklerin incelenmesi, Huntington hastalığının teşhisinde kullanılabilecek yeni belirteçlerin ortaya konulmasında oldukça önemlidir. Bu değişiklikler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Huntington hastalığındaki endokrin değişiklikler

Hormon	Huntington Hastalığındaki Profili	Deneysel Model	Kaynak
Orexin	Azalma	Transgenik(R6/2)	Peterson,2005 ¹⁸⁵
Prolaktin	Azalma	Transgenik(R6/2)	Durso , 1983 ¹⁸⁶
Melanin konsantre edici hormon (MCH)	Azalma	Transgenik(R6/2)	Peterson A, 2006 ¹⁸⁷
Büyüme Faktörü	Artma	Transgenik(R6/2)	Durso , 1983 ¹⁸⁶
Testosteron	Azalma	Transgenik(R6/2)	Papalexi,2005 ¹⁸⁸
Oksitosin	Azalma	Transgenik(R6/2)	Kotliarova,2005 ¹⁸⁹
Vasopresin	Azalma	Transgenik(R6/2)	Kotliarova,2005 ¹⁸⁹
TSHR	Azalma	Transgenik(R6/2)	Kotliarova,2005 ¹⁸⁹
Preprosomatostatin	Azalma	Transgenik(R6/2)	Kotliarova,2005 ¹⁸⁹
Nöropeptid Y	Azalma	Transgenik(R6/2)	Kotliarova,2005 ¹⁸⁹
Amfetamin ve kokain düzenleyici hormon	Azalma	Transgenik(R6/2)	Kotliarova,2005 ¹⁸⁹
Girelin	Azalma	Klinik	Popovic , 2004 ¹⁹⁰
Leptin	Azalma	Klinik	Popovic , 2004 ¹⁹⁰
GnRH(Gonadotropin saliverici hormon)	Artma	Transgenik(R6/2)	Peterson A, 2006 ¹⁸⁷
Kortikosteroid	Artma	Transgenik(R6/2)	Björkqvist,2006a ¹⁹¹

II.3-Memantin

Memantin, non-kompetitif, düşük afiniteli bir NMDA reseptör antagonisti olup, (1-amino-3,5- dimetil adamantin hidroklorid) amantadin (1-adamantin hidroklorid) analogudur¹⁹² ve antiparkinsoniyel¹⁹³ ve antiepileptik olarak kullanılan¹⁹⁴ bir bileşiktir. Alzheimer hastalarında NMDA reseptörlerinin fizyolojik fonksiyonlarını değiştirmeden¹⁹⁵ reseptörün patolojik aktivasyonunu engelleyerek kognitif fonksiyonları iyileştirmiştir. Memantin diğer non kompetitif NMDA reseptör antagonistlerine göre daha iyi tolere edilebildiği bilinmektedir¹⁹⁶. Bunun nedeni, reseptör afinitesinin diğer kompetitif reseptör antagonistleri (MK801) ile karşılaştırıldığında daha düşük olmasıyla açıklanabilir.

Aşırı glutamat düzeyi ve glutamat analoglarının hipoksik-iskemik beyin hasarı, epilepsi, travma ve Huntington hastalığı gibi birçok dejeneratif hastalıkta nöronal hücre ölümünde rol oynadığı gösterilmiştir¹⁹⁰. Hücresel enerji metabolizmasındaki azalma ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, glutamat geri alımının engellenmesi veya hücrenin kontrolsüz depolarizasyonu ile sonuçlanarak, her iki olay da NMDA reseptörlerinin aşırı stimülasyonuna neden olmaktadır¹²² Santral sinir sisteminde birçok alanda baskın nörotoksik şekil, glutamat'ın NMDA tipi reseptörünün aktivasyonu ve hücreye aşırı Ca^{+2} girişi ile sonuçlanmaktadır. Hücreye aşırı Ca^{+2} girişi enerji gereksinimini, depolarizasyonu arttırmakta ve endojen glutamat salıverilmesini tetiklemektedir. Varsayılan bu işleyiş, hücre içi Ca^{+2} dengesinin bozulması ve eksitotoksisiteyle sonuçlanmaktadır¹⁹⁸ Glutamat seviyeleri artışının neden olduğu hasarda, NMDA kanal reseptör blokörlerinin kompetitif reseptör antagonistlerine göre daha faydalı olacağına dair kanıtlar vardır¹⁹⁹.

Huntingtin proteini, kalpainler tarafından parçalanmakta ve bu parçalanma CAG uzunluğu tarafından yönlendirilmektedir. Kalpainler μ -kalpain ve m-kalpain olarak heterodimer halinde sitozolde bulunmakta ve Ca^{+2} artışı ile aktive olmaktadır. Kalpain aktivitesinde artışa bağlı parçalanma ile Mhtt daha küçük ve toksik poliglutamin uzantılarına dönüşmektedir²⁰⁰.

Memantin, yüksek glutamat konsantrasyonlarında NMDA reseptörlerinin aşırı aktivasyonunu inhibe ederek, nöronal kalsiyumun aşırı yüklenmesine karşı korur ve normal reseptör iletimi fonksiyonlarını düzeltir¹⁹⁶. Memantin striatal lezyon yoğunluğunu ise striatal apoptozisi azaltarak düşürdüğü gösterilmiştir. Ayrıca Bax seviyesini azaltırken, Bcl – xl seviyesini arttırdığı bunun yanı sıra kalpain aktivasyonunu ve huntingtinin parçalanmasını inhibe ettiği ve kaspaz aktivitesini de azalttığı saptanmıştır¹⁵⁹. Nedeni bilinmemekle birlikte kalpainlerin kaspazları azalttığı düşünülmektedir. Kalpain, birçok nekrotik ve apoptotik durumlarda aktive olurken kaspaz–3 sadece nöronal apoptoziste aktive olmaktadır²⁰⁰.

Memantin, substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöronlarda, nöronal hiperpolarizasyonu doza bağımlı olarak K_{ATP} kanallarını açarak azaltmaktadır²⁰¹ ve ayrıca nöroprotektif etkisinin neokortikal ya da striatal nöronlardan çok hipokampal alanlarda etkili olduğu gösterilmiştir²⁰³.

Memantin, limbik kortekste BDNF'nin seviyelerini attırdığı gösterilmiştir, bu da nöroprotektif etkisinden beyindeki BDNF üretimindeki artışın sorumlu olabileceğini düşünülmektedir²⁰⁴.

Memantin, kronik olarak 3-NP uygulanan Huntington hastalığı modelinde etkili olmadığı ve nörodejenerasyonu arttırdığı

saptanmıştır. Bazı araştırcılar, hücrelerin düşük enerji seviyesine bağlı ilerleyen nörodejenerasyonda kaspaz bağımlı apoptozise karşı, NMDA reseptörlerinin koruyucu etkisi olduğunu öne sürerek açıklamışlardır²⁰³.

Memantin, yüksek dozlarda uzun süren potansiyalizasyonu inhibe ederken, daha düşük konsantrasyonlarda NMDA reseptörlerini inhibe edebilmektedir. Nöronal nikotink asetikolin reseptörleri, memantinle antagonize olmuştur. Memantinin Mg^{+2} 'den daha uzun diğer NMDA reseptör antagonistlerinden daha kısa blokaj oluşturması fizyolojik fonksiyonları azaltmadan nöroprotektif etki göstermesini saėlar²⁰⁴.

Nörodejeneratif hastalıklardaki enerji metabolizmasındaki bozukluk, nöronal depolarizasyona ve voltaj - bağımlı Mg^{+2} 'un NMDA reseptörleri blokajının ortadan kalkmasına neden olmaktadır¹²². Memantin uzun zaman glutamerjik eksitabilite artışını suprese etmesi yavaş apoptotik hücre ölümü gerçekleşmesiyle iliřkilidir²⁰⁵.

Memantin mitokondri fonksiyonları üzerinde etkinliği, oksijen tüketiminin artması ve yüksek dozlarda kompleks I aktivitesinin artışı şeklinde gerçekleşmektedir. Daha yüksek dozlarda ise sitokrom oksidaz ve sitrat sentaz aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Bu da memantin irritan olabileceğini düşündürmüştür. Artan oksijen tüketimi, oksidatif fosforilasyonun azalmasına yol açan memantine ilişkin toksik bir etki olarak ortaya çıkar. İlacın akut ve kronik uygulamaları arasında farklı mitokondriyal değişikliklere yol açtığı saptanmıřtır²⁰⁶.

III.GEREÇ VE YÖNTEM

III.1 Gereçler

III.1.1. Deney Hayvanları

Deneylerde, 12 saat aydınlık (08⁰⁰-20⁰⁰) 12 saat karanlık (20⁰⁰-08⁰⁰) periyodunda senkronize edilmiş 15-40 g ağırlığında lokal üretim Swiss albino erkek fareler kullanılmıştır.

III.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları:

NaH₂PO₄. 2H₂O (Merck)

Na₂HPO₄. 12H₂O (Merck)

NaCl (Merck)

3-Nitropropiyonik Asit (Sigma): Deneylerden önce pH'ı 7,4 olan PBS çözeltisinde çözülerek taze olarak hazırlanmıştır.

Memantin HCl (Ebixa^R, Lundbeck)

PBS:

0.1M NaH₂PO₄. 2H₂O 50 ml çözeltisi hazırlandıktan sonra 0.1M Na₂HPO₄. 12H₂O çözeltisi eklenerek pH'ı 7,4'e ayarlanmıştır. pH'ı ayarlanan fosfat çözeltisi, 50 ml distile suda 9 g NaCl içeren çözeltiyle karıştırılarak PBS tampon çözeltisi hazırlanmıştır.

%0.9 NaCl çözeltisi: 0.9 g NaCl 100 ml distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

III.1.3. Kullanılan Aletler

Hassas terazi (Shimadzu)

Üstten kefeli terazi (Sartorius)

Mikropipet (Eppendorf Research)

Enjektör 100IU (Hayat)

Rotarod (UGO BASILE)

III.2 Yöntem

Huntington hastalığının farelerde 3-NP ile deneysel olarak modellenmesi, memantin bu model üzerindeki etkilerinin incelenmesi ve gerek 3-NP ile indüklenen hastalık modelinin gerekse memantin etkilerinin kronobiyolojik ritminin olup olmadığının araştırılması amacıyla ilaçlar uygulama zamanı gece (21⁰⁰) ve gündüz (09⁰⁰) olmak üzere günün iki farklı saatinde uygulanmıştır. Rastgele seçilen hayvanlar, her bir ilaç uygulama saati için 3 farklı gruba ayrılmıştır. Her bir deney grubunda 10 adet fare kullanılmıştır.

Kontrol grubu: Rota-rod testinden 2 saat önce, 30 dk aralıkla 2 kez 0.5 ml %0.9 NaCl intraperitoneal (i.p) olarak uygulanmıştır.

3-NP grubu: 3-NP, 5 günlük intoksikasyon protokolü kapsamında intraperitoneal olarak artan dozlarda (1 ve 2. gün 40 mg/kg, 3 ve 4. gün 80 mg/kg, 5. gün 120 mg/kg, kümülatif doz 360 mg/kg) uygulanmış ve ardından 30 dk sonra 0.5 ml %0.9 NaCl (i.p) verilmiştir.

3-NP+memantin grubu: 3-NP uygulanmasından 30 dk sonra 20 mg/kg dozda i.p olarak uygulanmıştır.

İlaçların uygulanmasına ve doz rejimine ilişkin detaylı bilgi Tablo-2'de verilmiştir.

Huntington hastalığındaki semptomlara benzer olarak 3-NP uygulanmasıyla gelişen motor ve postural anomaliler, arka ayak distonisi (Resim-1) ve gövdesel distoni (Resim-2) şeklinde gözlemlenmiştir.



Resim-1. 3-NP ile indüklenen arka ayak distonisi



Resim-2. 3-NP ile indüklenen gövdesel distoni

Tablo-2. Gruplara uygulanan günlük doz rejimi ve zamanı

	Kontrol	3-NP	3-NP + Memantin
1.GUN	gündüz	0,5ml %0,9NaCl + 0,5ml %0,9NaCl	40 mg/kg 3-NP + 0,5ml %0,9NaCl
	gece	0,5ml %0,9NaCl + 0,5ml %0,9NaCl	40 mg/kg 3-NP + 20 mg/kg memantin
2.GUN	gündüz	0,5ml %0,9NaCl + 0,5ml %0,9NaCl	40 mg/kg 3-NP + 0,5ml %0,9NaCl
	gece	0,5ml %0,9NaCl + 0,5ml %0,9NaCl	40 mg/kg 3-NP + 20 mg/kg memantin
3.GUN	gündüz	0,5ml %0,9NaCl + 0,5ml %0,9NaCl	80 mg/kg 3-NP + 0,5ml %0,9NaCl
	gece	0,5ml %0,9NaCl + 0,5ml %0,9NaCl	80 mg/kg 3-NP + 20 mg/kg memantin
4.GUN	gündüz	0,5ml %0,9NaCl + 0,5ml %0,9NaCl	80 mg/kg 3-NP + 0,5ml %0,9NaCl
	gece	0,5ml %0,9NaCl + 0,5ml %0,9NaCl	80 mg/kg 3-NP + 20 mg/kg memantin
5.GUN	gündüz	0,5ml %0,9NaCl + 0,5ml %0,9NaCl	120 mg/kg 3-NP + 0,5ml %0,9NaCl
	gece	0,5ml %0,9NaCl + 0,5ml %0,9NaCl	120 mg/kg 3-NP + 20 mg/kg memantin

III.2.1.Lokomotor Aktivitenin Değerlendirilmesi

Rotarod testi:

Rotarod testi, nörodejeneratif hastalık modellerinde motor bozukluklarının ölçümünde sıkça kullanılan bir testtir. Bu testte, hayvanların dönen mil üzerinde sınırlı bir sürede düşmeden dengede kalmaları gerekmektedir. Performans, hayvanların mil üzerinde kalma sürelerinin ölçümüdür. Bu sürenin uzunluğu, özellikle ön ve arka ayak motor koordinasyonunun ve dengenin göstergesidir.

Bu tez çalışmasında kullanılan rotarod cihazının özellikleri:

1.-5. disk arasındaki mesafe: 41,4 cm.

Disk yarıçapı ~4cm.

Disk çevresi: 17.6 cm.

Rotarod cihazı, sağ ve sol yanları kapalı 5 bölmeden oluşmaktadır ve plastik kaplı yatay metal bir mil içermektedir. Yuvarlak yan plakalar aynı yönde olup hayvanların diğer bölüme geçişini önlemektedir. Mil yerden 16 cm yüksekliktedir. Deneye başlarken fareler, deney yapan kişiye arkası dönük şekilde, düşmelerden kaçınılması için ileri dönük harekette, rotarodun dönüşüne zıt yönde yerleştirilir. Her bölüm altındaki kafesler, hayvanlar silindirden düştüklerinde hareketlerini kısıtlayıcı şekildedir (Resim-3).

Sistemdeki her bir disk, dijital saate sahiptir. Bu saat; saniye düzeyinde süreyi ölçebilmektedir. Deney hayvanı cihazdan düştüğü an, dijital saat otomatik olarak duracak şekilde ayarlanmıştır. Dolayısı ile bu sistem, deneylerin süre yönünden hatasız kabul edilebilecek bir şekilde yapılmasına olanak sağlamaktadır.

Bu tez kapsamında fareler, ilk olarak deneylerden bir gün önce rotaroda alıştırmaya protokolüne tabi tutulmuştur.

Rotaroda alıştırmaya protokolü: Çalışmalardan bir gün önce bütün fareler, rotarod cihazında 300sn (kesme zamanı) süresince 15'er dakika ara ile altı kez çalıştırılarak cihaza alışmaları ve stabil performans seviyelerine ulaşmaları sağlanmıştır.

Alıştırmaya periyodunu takip eden deney gününde, ilaçlar ilk olarak uygulandıktan 2 saat sonra (1.gün) ve ilaç uygulama protokolü tamamlandıktan sonraki ilk gün (6.gün) ve 3 gün sonra (9.gün) fareler sabit hızlı (5 rpm) rotaroda yerleştirilmiş ve 180 sn'lik kesme zamanına kadar rotaroddan düşme süreleri kaydedilmiştir. Her fare 15 dakikalık ara ile altı kez rotaroda alınmıştır. Tüm değerlerin ortalaması hesaplanarak performanslar değerlendirilmiştir.



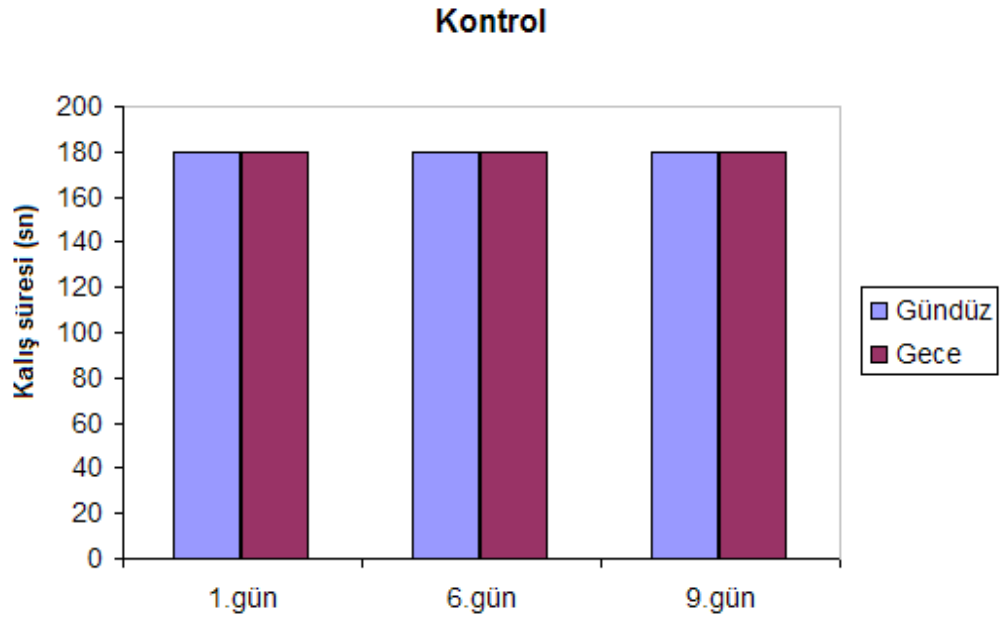
Resim-3. Rotarod cihazı

III. 3. İstatistiksel Analiz:

Deney gruplarında tespit edilen rotarodda kalış süresi, ortalama \pm ortalamanın standart hatası (S.H.) şeklinde ifade edilmiştir. Kontrol, 3-NP ve 3-NP+memantin grupları arasındaki gece gündüz farkının değerlendirilmesinde ve gerek gündüz gerekse gece gruplarında kontrol, 3-NP ve 3-NP+memantin gruplarına ait rotarodda kalış süreleri arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student-t testi ve gerektiğinde Tek örneklem t testi kullanılmıştır.

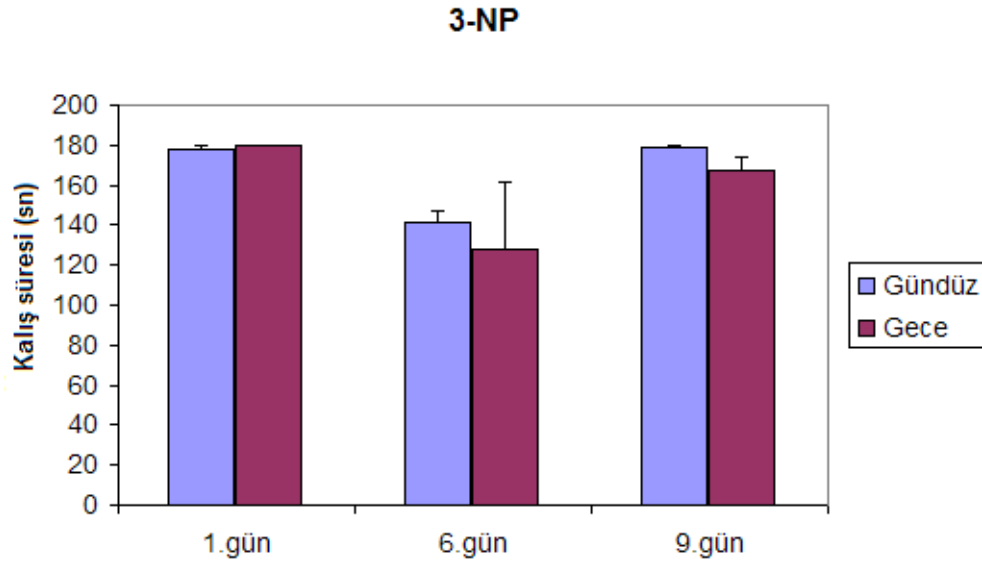
IV. BULGULAR

Gündüz 09⁰⁰, gece 21⁰⁰ saatlerinde i.p. olarak %0.9'luk NaCl uygulanmış kontrol grubundaki fareler rotarodda kalış süreleri bakımından stabil bir performans göstermişlerdir. Gerek gündüz gerekse gece uygulamaya bağlı olarak lokomotor aktivitede herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Grafik 1).



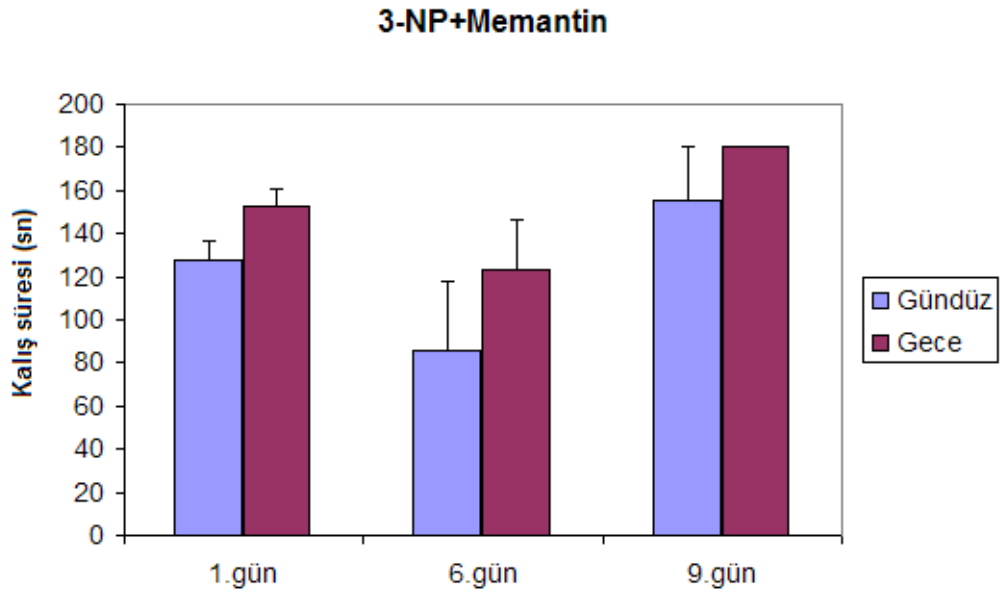
Grafik 1 : Gündüz ve gece %0.9'luk NaCl uygulanmış kontrol grubundaki farelerin rotarod'da kalış süreleri.

5 günlük intoksikasyon periyodunda gece veya gündüz 3-NP (kümülatif doz 360 mg/kg, i.p) uygulanmış farelerin rotarodda kalış süreleri, ilacın uygulandığı ilk gün (1. gün) ilaç uygulama zamanına bağlı olarak fark göstermemiştir. 3-NP'nin gece uygulandığı gruplarda ilaç protokolü tamamlandıktan sonraki gün (6.gün) ve 3 gün sonra (9.gün), lokomotor aktivite gündüze göre azalmış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Grafik 2).



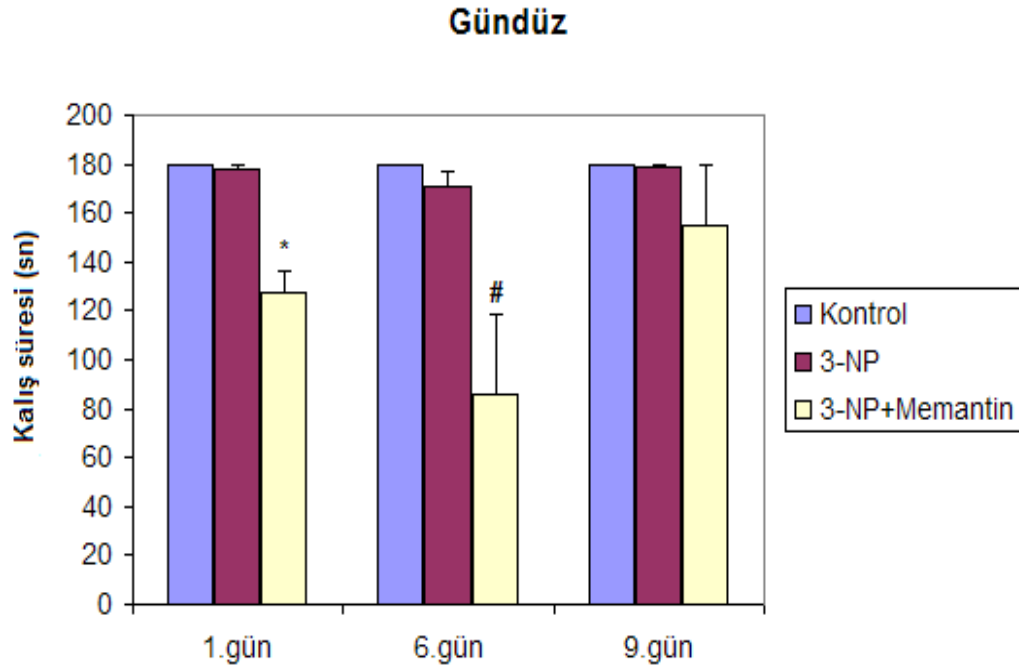
Grafik 2: Gündüz ve gece 3-NP (kümülatif doz 360 mg/kg, i.p) uygulanmış gruptaki farelerin rotarod'da kalış süreleri.

5 günlük intoksikasyon protokolünde gece veya gündüz 3-NP uygulandıktan 30 dk sonra memantin (20 mg/kg, i.p) uygulandığında intoksikasyonun başlangıcından itibaren 1.gün, 6. gün ve 9. gün ölçülen rotarodda kalış süreleri gece ilaç uygulanan gruplarda gündüze göre artarken aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Grafik 3).



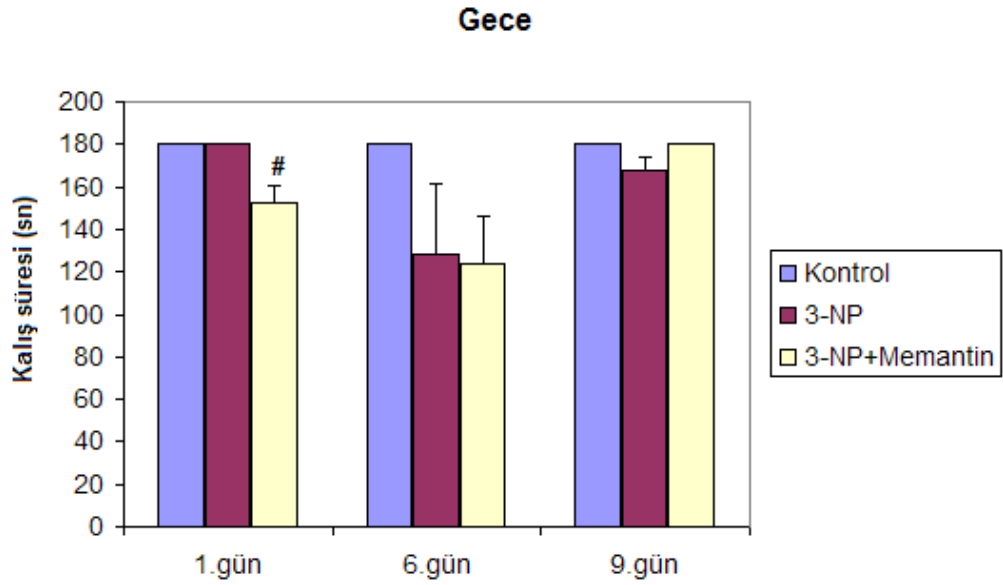
Grafik 3: 3-NP (kümülatif doz 360mg/kg, i.p, 5 gün) ile deneysel olarak Huntington oluşturulmuş farelerde gündüz veya gece uygulanan Memantin (20 mg/kg x5 gün) rotarodda kalış süresi üzerine etkileri.

Gündüz ilaç uygulanan gruplar birbiriyle karşılaştırıldığında, memantin uygulanmış gruptaki farelerin rotarodda kalış süreleri, intoksikasyonun başlangıcından itibaren 1. günde kontrol ve 3-NP grubuna göre, 6.günde ise sadece kontrole göre anlamlı olarak azalmıştır. 9. günde ise deney grupları arasında rotarodda kalış süresi bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Grafik 4).



Grafik 4: Gündüz ilaç uygulanan gruplarda rotarod kalış sürelerinin karşılaştırılması. * Kontrol ve 3-NP grubuna göre anlamlı olarak farklı (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.0001$), # Kontrole göre anlamlı olarak farklı ($p<0.01$).

İlaçlar gece uygulandığında, intoksikasyonun başlangıcından itibaren 1. günde memantin uygulanması, rotarodda kalış süresini kontrol ve 3-NP uygulanmış gruba göre anlamlı olarak azaltmıştır. 6. günde ise memantin grubunda 1.gündekine benzer bir etki profili gözlenmekle birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 6. günde 3-NP grubunda da rotarodda kalış süresi kontrole göre azalırken, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir (Grafik 5).



Grafik 5: Gece ilaç uygulanan gruplarda rotarod kalış sürelerinin karşılaştırılması. [#]Kontrole göre anlamlı olarak farklı ($p<0.01$).

Mortalite oranı:

Kontrol grubundaki farelerin hepsi deney protokolü sonuna kadar yaşarken, 3-NP grubunda ilaç 09⁰⁰'da uygulandığında intoksikasyonun başlangıcından itibaren 6. gün 10 fareden 1'i, ilaç 21⁰⁰'de uygulandığında ise 10 fareden 4'ü ölmüştür. 9. günde 3-NP gündüz grubundaki farelerden 7/10'u, gece grubunda ise 6/10'u ölmüştür. 3-NP+Memantin uygulanan gündüz grubundaki ölüm oranı 6.günde 4/10 ve 9. günde 7/10 iken gece grubunda 6.gün 8/10 ve 9. gün 9/10'dur.

V. TARTIŞMA

Huntington hastalığı, klinik olarak progresif kognitif bozukluk, koreiformik anormal hareketler ve nöropsikiyatrik semptomlarla karakterize otozomal dominant nörodejeneratif bir hastalıktır¹. Bu hastalığın patogenezinin sorumlu nöronal hücre ölümünde, agregasyon^{50,51}, mitokondriyal disfonksiyon^{93,94,95}, azalmış enerji metabolizmalarına bağlı gelişen eksitotoksisite¹⁰¹ ve anormal protein etkileşimlerine bağlı transkripsiyonda düzenleme bozuklukları⁷⁴ rol oynamaktadır.

Huntington hastalığında gözlenen eksitotoksinin mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik çalışmalarda, glutamat seviyelerinde artışla birlikte NMDA reseptörü aktivasyonunun, nöronal dejeneratif bölgelerde aşırı Ca^{+2} birikiminin ve GABA reseptörlerinin aktivasyonunun bu olaya katkıda bulunduğu gösterilmiştir¹⁹⁶.

Enerji metabolizmasındaki bozukluk da Huntington hastalığının etiyolojisinde önemli rol oynar. Huntington hastalarında yapılan magnetik rezonans görüntüleme ile striatumda oksidatif enerji metabolizmasının bozulduğu ve laktat konsantrasyonunun arttığı belirlenmiştir⁴⁸. 3-NP, geri-dönüşümsüz süksinat dehidrogenaz inhibitörüdür ve mitokondride hem Krebs siklusunu hem de elektron transport zincirinin Kompleks II'sini inhibe eder^{118,119}. Bununla birlikte, Huntington hastalığında gözlenen oksidatif enerji metabolizmasındaki bozukluğa benzer olarak 3-NP, striatumda laktat düzeylerinin artışına ve ATP düzeylerinin azalmasına neden olur. Kronik olarak sistemik 3-NP uygulanmasının, Huntington hastalığı semptomlarıyla uyumlu olarak sıçanlarda ve primatlarda striatal lezyonlara ve bradikinezi, distoni, yürüyüş bozuklukları ve frontal-tip kognitif bozukluklara neden olduğu gösterilmiştir^{1,22}.

Bu çalışmada da deneysel olarak Huntington hastalığı modeli oluşturmak amacıyla farelere 5 gün süreyle artan doz rejiminde 1 ve 2. gün 40 mg/kg, 3 ve 4. gün 80 mg/kg, 5. gün 120 mg/kg dozda 3-NP asit i.p. olarak uygulanmış ve intoksikasyon periyodu boyunca literatürde²⁰⁷ yapılan bu hastalığa ilişkin deneysel modelleme çalışmalarıyla uyumlu olarak, gövde ve arka ayak distonileri gözlemlenmiştir. Bu hareket ve postural bozukluklar, 3-NP ile Huntington hastalığı oluşturmak için uyguladığımız deneysel protokolün başarısını göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda, Huntington hastalığının en önemli klinik bulgularından biri olan istemsiz koreiformik hareketlerin gece daha sık olarak gözlemlendiği bildirilmiştir¹⁷⁷ ve bu da hastalığın patofizyolojisinde ve tedavisinde kronofarmakolojik yaklaşımın önemini düşündürmektedir. Bu bağlamda, bu tez çalışması kapsamında 3-NP ile indüklenen Huntington hastalığında lokomotor aktivitenin, ilacın gündüz (09⁰⁰) veya gece (21⁰⁰) uygulanmasına bağlı olarak değişip değişmediği incelenmiş ve çalışmanın sonucunda 3-NP'nin uygulama zamanına bağlı olarak lokomotor aktivitenin diurnal değişiklik göstermediği bulgulanmıştır.

Huntington hastalığında, spesifik olarak uygulanan bir tedavi protokolü bulunmamakla birlikte, tedavi oluşan semptomların giderilmesine yöneliktir.

Memantin, non-kompetitif¹⁹² bir NMDA antagonisti olup demans, Alzheimer¹⁹⁵ ve Parkinson¹⁹³ gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Huntington hastalığında gözlenen eksitotoksitenin altında yatan mekanizmalardan glutamat seviyelerine bağlı NMDA reseptör aktivasyonu göz önünde bulundurulduğunda, memantin Huntington hastalığında kullanımı umut verici görünmektedir. Lee ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada¹⁵⁹ memantin 3-NP ile oluşturulan Huntington hastalığı modelinde

antiapoptotik protein bcl-xl oranını azaltırken, apoptotik protein bax oranını artırdığı gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada memantin, huntingtin proteininin proteolitik fragmanını ve kalpain düzeyini azalttığı gösterilmiştir¹⁵⁹. Bu sonuçlar memantin 3-NP ile indüklenen striatal hücre ölümünü azalttığını göstermektedir, ancak bu çalışmada lokomotor aktivite değerlendirilmemiştir.

Literatürde memantinle ilgili yapılan çalışmalarda nöroprotektif etki ile ilgili bilgiler çelişkilidir. Bazı çalışmalarda Lee ve arkadaşlarına¹⁵⁹ zıt olarak memantin, kronik olarak 3-NP uygulanan Huntington hastalığı modelinde etkili olmadığı ve nörodejenerasyonu arttırdığı saptanmıştır. Bazı araştırmacılar, hücrelerin düşük enerji seviyesine bağlı ilerleyen nörodejenerasyonda kaspaz bağımlı apoptoza karşı, NMDA reseptörlerinin koruyucu etkisi olduğunu öne sürerek açıklamışlardır²⁰³

Bunun yanısıra memantine bağlı nöroprotektif etki neokortikal ya da striatal nöronlardan çok hipokampal alanda gözlenmektedir¹²⁹. Huntington hastalığında ise, nöronal hasarlı bölge striatumdur⁵.

Bizim çalışmamızda, Lee ve arkadaşlarının çalışmasındaki deneysel protokolle¹⁵⁹ uyumlu olarak memantin, 5 günlük intoksikasyon süresince günde 20 mg/kg i.p. olarak farelere uygulanmıştır. Memantin uygulanan gruptaki farelerin rotarodda kalış süreleri intoksikasyonun başlangıcından itibaren 1. ve 6. günde gerek kontrol gerekse 3-NP grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Çalışmamızda herhangi bir histolojik bulgu olmamasına karşın, memantin uygulanmasının farelerin lokomotor aktivitesini kötüleştirdiği bulgulanmıştır, bunun yanı sıra memantin gece veya gündüz farelere uygulanması sonucunda lokomotor aktivitede herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir.

VI. SONUÇ

Bu tez çalışması sonucunda 3-NP ile indüklenen Huntington hastalığı modelinde 3-NP'nin gündüz veya gece uygulanmasına bağlı olarak lokomotor aktivite bakımından bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. Bunun yanı sıra bu tez çalışması kapsamında oluşturulan 3-NP ile indüklenen hastalık modelinde lokomotor aktivite açısından yararı olup olmadığı araştırılan memantinin gerek gece gerekse gündüz uygulandığında farelerin rotarod performansını anlamlı olarak kötüleştirdiğı bulgulanmıştır.

VII. ÖZET

Bu çalışmanın amacı, 3-NP ile oluşturulan Huntington hastalığı modelinde lokomotor aktivitenin gece-gündüz farkı olup olmadığının ve bu hastalık modeli üzerinde memantin etkilerinin ve bu etkilerin diurnal ritminin olup olmadığının araştırılmasıdır.

Çalışma kapsamında kullanılan ilaçlar, rastgele oluşturulmuş 6 farklı deney grubundan 3'üne gündüz (09⁰⁰) 3'üne de gece (21⁰⁰) uygulanmıştır. Kontrol grubundaki farelere i.p olarak %0.9'luk NaCl çözeltisi enjekte edilmiştir. Deneysel olarak Huntington modeli oluşturulması amacıyla 5 günlük bir intoksikasyon protokolü seçilmiş ve farelere i.p. olarak artan dozlarda 3-NP (40-120 mg/kg) uygulanmıştır, intoksikasyon periyodu sonunda hayvanlara uygulanan kümülatif 3-NP dozu 360 mg/kg'dır. Hayvanlarda 3-NP uygulanmasına bağlı olarak gelişen gövde ve arka ayak distonileri Huntington hastalığının başarılı olarak oluşturulduğunun göstergesidir. Memantin bu hastalık üzerindeki etkilerini araştırmak için diğer bir grup fareye intoksikasyon protokolü süresince 3-NP uygulandıktan 30 dk sonra 20mg/kg dozda memantin i.p. olarak uygulanmıştır.

Lokomotor aktivitenin değerlendirilmesi amacıyla intoksikasyonun başlangıcından itibaren 1.gün, 6.gün ve 9.gün fareler rotarod testine tabi tutulmuş ve farelerin rotarodda kalış süreleri kaydedilerek değerlendirilmiştir.

Elde edilen bulgular, 3-NP'nin gece veya gündüz uygulanmasının oluşturulan Huntington hastalığı modelinde lokomotor aktivite bakımından herhangi bir değişiklik oluşturmadığını göstermiştir. Memantin uygulanması ise farelerin rotarod performansını anlamlı şekilde

kötüleştirirken, memantin de uygulama zamanına bağlı olarak lokomotor aktivite üzerinde oluşan etkileri diurnal ritim göstermemiştir.

Bu sonuçlar gösterir ki, 3-NP ile oluşturulan Huntington hastalığı modelinde lokomotor aktivite açısından gece-gündüz farkı bulunmamaktadır ve memantin deneysel olarak 3-NP ile oluşturulan hastalık modelinde lokomotor aktiviteyi kötüleştirir.

Anahtar Kelimeler : 3-nitropropiyonik asit, Huntington hastalıęı, memantin, kronobiyołoji.

VIII. SUMMARY

The aim of this study is to investigate the day-night differences of locomotor activities, the effects of the memantine and the diurnal rhythm of these effects if there is any at Huntington's disease model.

The drugs used on this study applied on six different experimental groups that are created randomly and applied half of the groups at daytime (09⁰⁰), half at night (21⁰⁰). 0.9% NaCl solution injected to control group of mouse as i.p. An intoxication protocol picked for 5 days to create Huntington model and 3NP (40-120mg/kg) been applied increasingly. At the end of the period of intoxication, cumulative 3-NP dose is 360 mg/kg (at 3-NP groups). Hind limb and truncal dystonia shows that Huntington's disease is created by 3-NP injection. 20mg/kg dosed memantine applied 30 minutes after 3-NP injection to research the effects of memantine i.p. on process of intoxication protocol.

Groups are tested on rotarod at the beginning of intoxication, on days 1, 6 and 9 and the time to ability to stay on rotarod been recorded to estimate the locomotor activities.

The application of 3-NP at night or daytime doesn't have any effect at Huntington model as locomotor activity. The application of memantine effected the performance of mouse at rotarod, as decreasing the time to be able to stay, also effects didn't show any diurnal rhythm with the time of application.

These findings shows that at Huntington's disease model created by 3-NP doesn't have day-night differences as locomotor activities and memantine effects badly the locomotor activity created by 3-NP.

Key Words : 3-nitropropionic acid, Huntington's disease, memantine, chronobiology.

IX. KAYNAKLAR

1. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. 1993; *Cell* 72,971–983.

2. Barbeau A, Duvoisin R C., Gerstenbrand, F., Lakke, J. P., Marsden, C. D. and Stern, G. Classification of extrapyramidal disorders. Proposal for an international classification and glossary of terms. *J. Neurol. Sci.* 1981; 51: 313–327.

3. Menalled LB, Chesselet MF et al. Mouse models of Huntington's disease. *Trends in Pharmacological Sciences.* 2002;23 : 32–38.

4. Elliotson J. Clinical lecture. *Lancet.* 1832;1: 161–167.

5. Walker FO. Huntington's disease. *Lancet.* 2007;369: 210–28

- 6, Huntington G. On chorea. *Med Surg Rep ;*1872; 26: 317–21

7. Hardy J. Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *TINS* 1997;20: 154-159

8. Gusella Jf, Wexler NS. Conneally PM, Naylor SL, Anderson MA, Tanzi RE, Watkins PC, Ottina K, Wallace MR, Sakaguchi AY, Shoulson I, Bonilla E, Martin JB et al. A polymorphic marker genetically linked to Huntington's disease. *Nature* 1983;306:234 -238.

Snachez AME, Mejia-Toiber J, Massieu L et al. Excitotoxic Neuronal Death and the Pathogenesis of Huntington's disease. *Archives of Medical Research*. 2008;39: 265–276.

9. Brouillet E, Conde F, Beal MF, Hantraye P et al. Replicating Huntington's disease phenotype in experimental animals. *Neurobiology*. 1999; 59: 427–468.

10. Kremer B, Weber B and Hayden MR. New insights into the clinical features, pathogenesis and molecular genetics of Huntington's disease. *Brain Pathol*. 1992; 2: 321-335.

11. Takano H, Cancel G, Ikeuchi T, et al. Close associations between prevalences of dominantly inherited spinocerebellar ataxias with CAG-repeat expansions and frequencies of large normal CAG alleles in Japanese and Caucasian populations. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 1060–66

12. Harper PS, Jones L. Huntington's disease: genetic and molecular studies. In: Bates G, Harper P, Jones L, eds. *Huntington's disease*. New York: Oxford University Press, 2002: 113–58.

13. Wright HH, Still CN, Abramson RK et al. Huntington's disease in black kindreds in South Carolina. *Arch Neurol* 1981; 38: 412–14.

14. Folstein S. *Huntington's disease: a disorder of families*. The John Hopkins University Press, 1989.

15. Myers RH. Huntington's disease genetics. *NeuroRx* 2004;1: 255–62.

16. Snowden JS, Craufurd D, Griffiths HL, Neary D et al. Awareness of involuntary movements in Huntington disease. *Arch Neurol* 1998;55: 801–05.
17. Paulsen JS, Hoth KF, Nehl C, Stierman L et al. Critical periods of suicide risk in Huntington's disease. *Am J Psychiatry* 2005; 162: 725–31.
18. Craufurd D, Snowden J et al. Neuropsychological and neuropsychiatric aspects of Huntington's disease. In: Bates G, Harper P, Jones L, eds. *Huntington's disease*. New York: Oxford University Press, 2002: 62–94.
19. Robins Wahlin TB, Backman L, Lundin A, Haegermark A, Winblad B, Anvret M. High suicidal ideation in persons testing for Huntington's disease. *Acta Neurol Scand* 2000; 102: 150–61.
20. Gordon AM, Quinn L, Reilmann R, Marder K et al. Coordination of prehensile forces during precision grip in Huntington's disease. *Exp Neurol* 2000; 163: 136–48.
21. Amende I, Kale A, McCue S, Glazier S, Morgan JP, Hampton TG et al. Gait dynamics in mouse models of Parkinson's disease and Huntington's disease. *Journal of Neuro Engineering and Rehabilitation* 2005;2: 1- 13.
22. Fernagut PO, Diguët E, Labattu B, Tison F. A simple method to measure stride length as an index of nigrostriatal dysfunction in mice. *Journal of Neuroscience Methods* 2002;113:123–130.

23. Richfield EK, Maguire-Zeiss KA, Vonkeman HE, Voorn P et al. Preferential loss of preproenkephalin versus preprotachykinin neurons from the striatum of Huntington's disease patients. *Ann. Neurol.* 1995;38:852–61.
24. Cummings J L. Frontal-subcortical circuits and human behavior. *Arch. Neurol.* 1993;50: 873–880.
25. Mahant N, McCusker EA, Byth K, Graham S. Huntington's disease: clinical correlates of disability and progression. *Neurology.*2003; 61:1085–92.
26. Ambrose CM, Duyao MP, Barnes G, et al. Structure and expression of the Huntington's disease gene: evidence against simple inactivation due to expanded CAG repeat. *Somat Cell Mol Genet* 1994; 20: 27–38.
27. Cattaneo E, Zuccato C, Tartari M. Normal huntingtin function: an alternative approach to Huntington's disease. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6:919–930.
28. Gardoni F, Di Luca M, et al. New targets for pharmacological intervention in the glutamatergic synapse. *Eur J Pharmacol.*2006;545:2–10.
29. Rangone H, Humbert S, Saudou F. Huntington's disease: how does huntingtin, an anti-apoptotic protein, become toxic? *Pathol Biol* 2004; 52: 338–42.

30. Rubinsztein DC. Molecular biology of Huntington's disease (HD) and HD-like disorders. In: Pulst S, ed. Genetics of movement disorders. California: Academic Press, 2003: 365–77.
31. Bae BI, Xu H, Igarashi S, et al. P53 mediates cellular dysfunction and behavioral abnormalities in Huntington's disease. *Neuron*. 2005; 47: 29–41.
32. DiProspero NA, Chen EY, Charles V, Plomann M, Kordower JH. Early changes in Huntington's disease patient brains involve alterations in cytoskeletal and synaptic elements. *J Neurocytol* 2004;33: 517–33.
33. Charrin BC, Saudou F, Humbert S. Axonal transport failure in neurodegenerative disorders: the case of Huntington's disease. *Pathol Biol*. 2005; 53: 189–92.
34. Davies SW et al. Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. *Cell*.1997; 90: 537–548.
35. Orr, H.T. et al. The role of ataxin-1 nuclear expression and aggregates in SCA1 pathogenesis. *Am. J. Hum. Genet*. 1998;63, A8
36. Rubinsztein DC. Lessons from animal models of Huntington's disease. *Trends in Genetics* 2002;4: 202–208.

37. Snell RG, McMillan JC, Cheadle JP, Fenton I, Lazarou LP, Davies P, McDonald ME, Gusella JF, Harper PS and Shaw DJ. Relationship between trinucleotide repeat expansion and phenotypic variation in Huntington's disease. *Nature Genet.* 1993 4, 393-397.

38. Vonsattel JPG, DiFiglia M. Huntington's disease. *J Neuropathol Exp Neuro.* 1998;57:369–384

39. Vonsattel JPG, Myer RH, Stevens TJ, Ferrante RJ, Bird ED and Richardson EP Jr. Neuropathological classification of Huntington's disease. *J. Neuropathol. exp. Neurol.* 1985;44: 559–577.

40. Spargo E, Everall IP, Lantos PL. Neuronal loss in the hippocampus in Huntington's disease: a comparison with HIV infection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1993; 56: 487–91.

41. Macdonald V, Halliday G. Pyramidal cell loss in motor cortices in Huntington's disease. *Neurobiol Dis* 2002; 10: 378–86.

42. Jeste DV, Barban L, Parisi J. Reduced Purkinje cell density in Huntington's disease. *Exp Neurol* 1984; 85: 78–86.

43. Kremer HP, Roos RA, Dingjan GM, Bots GT, Bruyn GW, Hofman MA. The hypothalamic lateral tuberal nucleus and the characteristics of neuronal loss in Huntington's disease. *Neurosci Lett.* 1991; 132: 101–04.

44. Heinsen H, Rub U, Bauer M, et al. Nerve cell loss in the thalamic mediodorsal nucleus in Huntington's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 1999; 97: 613–22.
45. Savoiaro M, Strada L, Oliva D, Girotti F, D'Incerti L, et al. Abnormal MRI signal in the rigid form of Huntington's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 1991;54: 888–891.
46. Lenti C, Bianchini E, et al. Neuropsychological and neuroradiological study of a case of early-onset Huntington's chorea. *Dev. Med. Child Neurol.* 1993; 35: 1007–1010.
47. Oliva D, Carella F, Savoiard M Strada L, Giovannini P, Testa D, Filippini G, Caraceni T, Girotti F, et al. Clinical and magnetic resonance features of the classic and akinetic-rigid variants of Huntington's disease. *Arch. Neurol.* 1993;50:17–19.
48. Bogdanov MB, Ferrante RJ, Kuemmerle S, Klivenyi P, Beal MF. Increased Vulnerability to 3-Nitropropionic Acid in an Animal Model of Huntington's Disease. *Journal of Neurochemistry* 1998;71:2642–2644.
49. Bates GP, Mangiarini L, Mahal A, Davies SW. Transgenic models of Huntington's disease. *Human Molecular Genetics* 1997; 6 :1633 – 1637.
50. Perutz MF, Pope BJ, Owen D, et al. Aggregation of proteins with expanded glutamine and alanine repeats of the glutamine-rich and asparagine-rich domains of Sup35 and of the amyloid beta-peptide of amyloid plaques. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99:5596–5600.

51. Scherzinger E, Lurz R, Turmaine M, et al. Huntingtin-encoded polyglutamine expansions form amyloid-like protein aggregates in vitro and in vivo. *Cell* 1997; 90:549–558.
52. Bence NF, Sampat RM, Kopito RR. Impairment of the ubiquitin–proteasomesystem by protein aggregation. *Science* 2001; 292:1552–1555.
53. Verhoef LG, Lindsten K, Masucci MG, Dantuma NP. Aggregate formationinhibits proteasomal degradation of polyglutamine proteins. *Hum Mol Genet.* 2002; 11:2689–2700.
54. Hunter JM, Lesort M, Johnson GV. Ubiquitin-proteasome system alterations in a striatal cell model of Huntington’s disease. *J Neurosci Res.* 2007;85:1774–1788.
55. Weiss A, Klein C, Woodman B, et al. Sensitive biochemical aggregate detection reveals aggregation onset before symptom development in cellular and murine models of Huntington’s disease. *J Neurochem.* 2008; 104:846–858.
56. Hoffner G, Island ML, Djian P. Purification of neuronal inclusions of patients with Huntington’s disease reveals a broad range of N-terminal fragments of expanded huntingtin and insoluble polymers. *J Neurochem.* 2005; 95:125–136.

57. DiFiglia M, Sapp E, Chase KO, et al. Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science*. 1997; 277:1990–1993.
58. Martindale D, Hackam A, Wieczorek A, et al. Length of huntingtin and its polyglutamine tract influences localization and frequency of intracellular aggregates. *Nat Genet* . 1998; 18:150–154.
59. Kazantsev A, Preisinger E, Dranovsky A, et al. Insoluble detergent-resistant aggregates form between pathological and nonpathological lengths of polyglutamine in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96:11404–11409.
60. Gunawardena S, Her LS, Brusch RG, et al. Disruption of axonal transport by loss of huntingtin or expression of pathogenic polyQ proteins in *Drosophila*. *Neuron*. 2003; 40:25–40.
61. Trushina E, Dyer RB, Badger JD 2nd, et al. Mutant huntingtin impairs axonal trafficking in mammalian neurons in vivo and in vitro. *Mol Cell Biol*. 2004;24:8195–8209.
62. Saudou F, Finkbeiner S, Devys D, Greenberg ME. Huntingtin acts in the nucleus to induce apoptosis but death does not correlate with the formation of intranuclear inclusions. *Cell*. 1998; 95:55–66.
63. Slow EJ, Graham RK, Osmand AP, et al. Absence of behavioral abnormalities and neurodegeneration in vivo despite widespread neuronal huntingtin inclusions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102:11402–11407.

64. Gong B, Lim MC, Wanderer J, et al. Time-lapse analysis of aggregate formation in inducible PC12 cell model of Huntington's disease reveals time-dependent aggregate formation that transiently delays cell death. *Brain Res Bull.* 2008; 75:146–157.

65. Li H, Li SH, Yu ZX, et al. Huntingtin aggregate-associated axonal degeneration is an early pathological event in Huntington's disease mice. *J Neurosci.* 2001; 21:8473–8481.

66. Li H, Li SH, Johnston H, et al. Amino-terminal fragments of mutant huntingtin show selective accumulation in striatal neurons and synaptic toxicity. *Nat Genet.* 2000; 25:385–389.

67. Hague S, Klaffe S, Bandmann O, et al. Neurodegenerative disorders: Parkinson and Huntington disease. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry.* 2005; 76: 1058–1063

68. Herbst M, Wanker EE. Small molecule inducers of heat-shock response reduce polyQ mediated huntingtin aggregation. A possible therapeutic strategy. *Neurodegener Dis.* 2007; 4:254–260.

69. Seo H, Sonntag KC, Kim W, et al. Proteasome activator enhances survival of Huntington's disease neuronal model cells. *PLoS ONE.* 2007; 2:238.

70. Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, et al. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet* 2004; 36:585–595.

71. Cooper AJ., Kwan-Fu RS, Burke JR, Onodera O, Strittmater WJ, Roses AD, Blass JP. Polyglutamine domains are substrates of tissue transglutaminase: does transglutaminase play a role in expanded CAG/polyQ neurodegenerative diseases? *J. Neurochem.* 1997;69:431–434.

72. Karpuj MV, Garren H, Slunt H, Price DL, Gusella J, Becher MW, Steinman L. Transglutaminase aggregates Huntingtin into non-amyloidogenic polymers and its enzymatic activity is increased in Huntington's disease brain nuclei. *Proc. Natl.Acad. Sci.* 1999; 96: 7388–7393.

73. Lesort M, Chun W, Johnson GV, Ferrante RJ. Tissue transglutaminase is increased in Huntington's disease brain. *J. Neurochem.* 1999;73: 2018–2027.

74. Hughes RE. Polyglutamine disease: acetyltransferases awry. *Current Biology* 2002; 12:141–143

75. Purves D, George JA, David F, William C, Anthony-Samuel LM, James O. M, Leonard E. *White Neuroscience.* 2008;4: pp. 170–176.

76. Silvia G, Ihn S S, Elisa F, Elena I, Flavia T, James F G, Vanessa CW, Francesca P and Marcy EM. Specific progressive cAMP reduction implicates energy deficit in presymptomatic Huntington's disease knock-in mice. *Human Molecular Genetics.* 2003;12; 497–508

77. Steffan JS, Kazantsev A, Spasic-Boskovic O, Greenwald M, Zhu YZ,

Gohler H, Wanker EE, Bates GP, Housman DE, Thompson LM. The Huntington's disease protein interacts with p53, CREB binding protein, represses transcription. *Proc Natl Acad Sci USA*.2000;97:6763–6768.

78. Riccio A, Ahn S, Davenport CM, Blendy JA, Ginty DD. Mediation by a CREB family transcription factor of NGF-dependent survival of sympathetic neurons. *Science*.1999; 286:2358–2361.

79. Burke JR, Enghild JJ, Martin ME, Jou YS, Myers RM, Roses AD, Vance JM, Strittmatter WJ. Huntingtin and DRPLA proteins selectively interact with the enzyme GAPDH. *Nature Med*. 1996;2: 347–350.

80. Liu YF, Deth RC, Devys D. SH3 domain-dependent association of huntingtin with epidermal growth factor receptor signaling complexes. *J. Biol. Chem*. 1997;272: 8121–8124.

81. Kalchman MA, Koide HB, McCutcheon K, Graham RK, Nichol K, Nishiyama K, Kazemi-Esfarjani P, Lynn FC, Wellington C, Metzler M, Goldberg, YP, Kanazawa I, Gietz RD, Hayden MR. HIP1, a human homolog of *S. cerevisiae* Sla2p, interacts with membrane-associated huntingtin in the brain. *Nature Genet*. 1997; 16: 44–53.

82. Hackam AS, Yassa AS, Ssingaraja R, Metzler M, Gutekunst C – A, Gan L, Warby S, Wellington CL, Vaillancourt J, Chen N, Gervais FG, Raymond L, Nicholson DW, Hayden MR, et al. Huntington interacting protein 1 induces apoptosis via a Novel Caspase-dependent death effector domain. *The Journal of Biological Chemistry by The American Society for Biochemistry and Molecular Biology*. 2000;275: 41299–41308.

83. Ashe P, Berry M. Apoptotic signaling cascades. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*.2003; 27:199–214
84. Petersen A, Mani K, Brundin P. Recent advances on the pathogenesis of Huntington's disease. *Exp Neurol*. 1999;157:1–18
85. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies with in. *Science*. 1997;281:1312–1316.
86. Gren DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis. *Science*. 1998;281:1309–1312.
87. Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, Wang X et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1 /caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell*.1997;91:479–489
88. Vis JC, Schipper E, Huizen RT, Verbeek MM, Wall RMW, Wesseling P, Donkelaar HJ, Kremer B, et al. Expression pattern of apoptosis-related markers in Huntington's disease. *Acta Neuropathol* 2005;109: 312 – 328.
89. Antonawich FJ, Fiore-Marasa Susan M, Parker CP. Modulation of apoptotic regulatory proteins and early activation of cytochrome C following systemic 3-nitropropionic acid administration. *Brain Research Bulletin*.2002;57:647–649
90. Goldberg YP, Nicholson DW, Rasper DM, Kalchman MA, Koide HB, Graham RK, Bromm M, Kazemi-Esfarjani P, Thornberry NA, Vaillancourt,

JP and Hayden MR. Cleavage of huntingtin by apopain, a proapoptotic cysteine protease, is modulated by the polyglutamine tract. *Nature Genet.* 1996b;13: 442–449.

91. Hermel E, Gafni J, Propp SS, Leavitt BR, Wellington CL, Young¹ JE, Hackam AS, Logvinova¹ AV, Peel AL, Chen SF, Hook V, Singaraja R, Krajewski S, Goldsmith PC, Ellerby HM, Hayden MR, Bredesen DE, Ellerby LM, et al. Specific caspase interactions and amplification are involved in selective neuronal vulnerability in Huntington's disease. *Cell Death and Differentiation.* 2004; 11: 424–438.

92. Vis JC, Verbeek MM, de Waal RMM, Donkelaar HJ, Kremer B, et al. The mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid induces differential expression patterns of apoptosis-related markers in rat striatum. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 2001; 27: 68–76.

93. Hamilton JM, Wolfson T, Peavy GM, et al. Rate and correlates of weight change in Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:209–212.

94. Arenas J, Campos Y, Ribacoba R, et al. Complex I defect in muscle from patients with Huntington's disease. *Ann Neurol* 1998; 43:397–400.

95. Jenkins BG, Rosas HD, Chen YC, et al. ¹H NMR spectroscopy studies of Huntington's disease: correlations with CAG repeat numbers. *Neurology* 1998; 50:1357–1365.

96. Panov AV, Burke JR, Strittmatter WJ, Greenamyre JT. In vitro effects of polyglutamine tracts on Ca^{+2} -dependent depolarization of rat and human mitochondria: relevance to Huntington's disease. *Arch Biochem Biophys.*2003; 410:1–6.
97. Cui L, Jeong H, Borovecki F, et al. Transcriptional repression of PGC-1alpha by mutant huntingtin leads to mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. *Cell* 2006; 127:59–69.
98. Lee JM, Ivanova EV, Seong IS, et al. Unbiased gene expression analysis implicates the huntingtin polyglutamine tract in extramitochondrial energy metabolism. *PLoS Genet* .2007; 3:e135.
99. Rothman SM, Olney JW. Excitotoxicity and the NMDA receptor – still lethal after eight years. *Trends Neurosci.* 1995; 18:57–58.
100. Cull-Candy S, Brickley S, Farrant M. NMDA receptor subunits: diversity, development and disease. *Curr Opin Neurobiol.* 2001; 11:327–335.
101. Beal MF, Kowall NW, Ellison DW, et al. Replication of the neurochemical characteristics of Huntington's disease by quinolinic acid. *Nature.* 1986;321:168–171.
102. Stack EC, Dedeoglu A, Smith KM, et al. Neuroprotective effects of synaptic modulation in Huntington's disease R6/2 mice. *J Neurosci* 2007; 27:12908–12915.

103. Behrens PF, Franz P, Woodman B, et al. Impaired glutamate transport and glutamate-glutamine cycling: downstream effects of the Huntington mutation. *Brain* 2002; 125:1908–1922.
104. Zeron MM, Hansson O, Chen N, et al. Increased sensitivity to N-methyl-D-aspartate receptor-mediated excitotoxicity in a mouse model of Huntington's disease. *Neuron* 2002; 33:849–860.
105. Fan MM, Fernandes HB, Zhang LY, et al. Altered NMDA receptor trafficking in a yeast artificial chromosome transgenic mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci* 2007; 27:3768–3779.
106. Tang TS, Chen X, Liu J, Bezprozvanny I. Dopaminergic signaling and striatal neurodegeneration in Huntington's disease. *J Neurosci* 2007; 27:7899–7910.
107. Charvin D, Roze E, Perrin V, et al. Haloperidol protects striatal neurons from dysfunction induced by mutated huntingtin in vivo. *Neurobiol Dis* 2008;29:22–29.
108. Wang L, Qin Z, et al. Animal models of Huntington's disease: implications in uncovering pathogenic mechanisms and developing therapies. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2006; 27: 1287–1302
109. Mangiarini L, Sathasivam K, Seller M, Cozens B, Harper A, Hetherington C, et al. Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell* 1996; 87: 493–506

110. Hodson JG, Agoqyan N, Gutekunst CA, Leavitt BR, LePiane F, Singaraja R, Smith DJ, Bissada N, McCutcheon K, Nasir J, Jamot L, Li XJ, Stevens ME, Rosemond E, Roder JC, Phillips AG, Rubin EM, Hersch SM, Hayden MR. A YAC Mouse Model for Huntington's Disease with Full-Length Mutant Huntingtin, Cytoplasmic Toxicity, and Selective Striatal Neurodegeneration. *Neuron*.1999; 23: 181–192.

111. Nasir, J. et al. Targeted disruption of theHuntington's disease gene results in embryoniclethality and behavioral and morphological changes in heterozygotes. *Cell*.1995; 81: 811–823

112. White, J.K. et al. Huntingtin is required for neurogenesis and is not impaired by the Huntington's disease CAG expansion. *Nat.Genet*. 1997;17: 404–410

113. Dragatsis, I. et al. Inactivation of Hdh in the brain and testis results in progressive neurodegeneration and sterility in mice. *Nat. Genet*. 2000;26: 300–306

114. Lin C-H, Tallaksen-Greene S, Chien W-M, Ceraley JA, Jackson WS, Crouse AB, Ren S, Li X-J, Ablin R.L, Detioff PJ, et al. Neurological abnormalities in a knock-in mouse model of Huntington's disease. *Human Molecular Genetics* 2001; 10 : 137–144.

115. Hersch SM, Ferrante RJ et al. Translating therapies for Huntington's disease from genetic animal models to clinical trials. *NeuroRx*. 2004; 3: 298–603.

116. Bates GP, Murphy K. Mouse models of Huntington's disease. In: Bates G, Harper P, Jones L, eds. Huntington's disease. New York: Oxford University Press, 2002: 387–428.
117. Marsh JL, Pallos J, Thompson LM. Fly models of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 2003; 12 (Spec No 2): R187–93.
118. Ludolph AC, He F, Spencer PS, Hammerstad J, Sabri M. 3-Nitropropionic acid-exogenous animal neurotoxin and possible human striatal toxin. *Can. J. Neurol. Sci.* 1991;18:492–498.
119. Coles CJ, Edmonson DE, Singer TP. Inactivation of succinate dehydrogenase by 3-nitropropionate. *J. Biol. Chem.* 1979; 255: 4772–4780.
120. Gould H, Wilson M P, Hamar D W, et al. Brain enzyme and clinical alterations induced in rats and mice by nitroaliphatic toxicants. *Tox. Lett.* 1985;27: 83–89.
121. Beal MF, Brouillet E, Jenkins BG, Ferrante RJ, Kowall NW, Miller JM, Storey E, Srivastava R, Rosen BR, Hyman B, et al. Neurochemical and histologic characterization of striatal excitotoxic lesions produced by the mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid. *The Journal of Neuroscience* 1993; 13: 4181- 4192.
122. Beal MF. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Ann. Neurol.* 2005;58: 495.

123. Erecinska M, Nelson D. Effects of 3-nitropropionic acid on synaptosomal energy and transmitter metabolism: relevance to neurodegenerative brain diseases. *J. Neurochem.* 1994;63:1033–1041.
124. Lesort M, Chun W.J, Tucholski Janusz, Johnson G.V. W, et al. Does tissue transglutamine play a role in Huntington's disease. *Neurochemistry International* 2002;40: 37–52
125. Borlongan CV, Koutouzis TK, Freema TB, Cahil D, WSanberg PR, Systemic 3-nitropropionic acid: behavioral deficits and striatal damage in rats. *Brain Res. Bull.* 1995;36: 549–556.
126. Bogdanov MB, Ferrante RJ, Kuemmerle S, Klivenyi P, Beal MF, et al. Increased Vulnerability to 3-Nitropropionic Acid in an Animal Model of Huntington's Disease. *Journal of Neurochemistry.* 1998;71:24642–2644
127. Hamilton BF, Gould DH. Nature and distribution of brain lesions in rats intoxicated with 3-nitropropionic acid: a type of hypoxic (energy deficient) brain damage. *Acta neuropathol.* 1987;72:286–297.
128. Guyot MC, Hantraye P, Dolan R, Pafi S, Maziere M, Brouillet E, et al. Quantifiable bradykinesia, gait abnormalities and Huntington's disease-like striatal lesions in rats chronically treated with 3-nitropropionic acid. *Neuroscience.* 1997(a); 79: 45–56
129. Nishino H, Kumazaki M, Fukuda A, Fujimoto I, Shimano Y, Hida H, Sakurai T, Deshpande SB, Shimizu H, Morikawa S, Inubushi T. Acute 3-nitropropionic acid intoxication induces striatal astrocytic cell death and

dysfunction of the bloodbrain barrier: involvement of dopamine toxicity. *Neurosci. Res*,1997;27: 343–355.

130. Brouillet E, Jacquard C, Bizat N, Blum DJ. 3-Nitropropionic acid: a mitochondrial toxin to uncover physiopathological mechanisms underlying striatal degeneration in Huntington's disease. *Neurochem.*, 2005;95: 1521.

131. Quary S, Bizat N, Altairac S, Menetrat H, V. Mittoux V, Conde F, Hantraye P And Brouillet E, et al. Major strain differences in response to chronic systemic administration of the mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid in rats: implications for neuroprotection studies. *Neuroscience*.2000; 97: 521–530.

132. Borlongan CV, Koutouzis TK, Sanberg PR, et al. 3-Nitropropionic acid animal model and Huntington's disease. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 1997;21: 289-293.

133. Palfi S, Ferrante RJ, Brouillet E, Beal MF, Dolan R, Guyot MC, Peschanski M, Hantraye PJ. Chronic 3-nitropropionic acid treatment in baboons replicates the cognitive and motor deficits of Huntington's disease. *J Neurosc*, 1996, 16, 3019.

134. Ryan ME, Asley RA. How do tetracyclines work? *Adv. Dent. Res*. 1998;12:149–151

135. Hersch S, Flink K, Vonsattel JP, Friedlander RM, et al. Minocycline is protective in a mouse model of Huntington's disease. *Annals of Neurology*. 2003;54: 841

136. Smith LD, Woodman A et al. Minocycline and doxycycline are not beneficial in a model of Huntington's disease. *Ann Neurol.* 2003;54:186-196.

137. Diguët E, Rouland R, Tison F, et al. Minocycline is not beneficial in a phenotypic mouse model of Huntington's disease. *Annals of Neurology.* 2003;54: 841–842

138. Wu J, Tang T, Bezprozvanny I, et al. Evaluation of clinically relevant glutamate pathway inhibitors in in vitro model of Huntington's disease. *Neuroscience Letters.* 2006;407: 219–223.

139. Centonze D, Calabresi P, Pisani A, Marinelli S, Marfia GA, Bernardi G, et al. Electrophysiology of the neuroprotective agent riluzole on striatal spiny neurons. *Neuropharmacology.* 1998;37: 1063–1070.

140. Mary V, Wahl F, Stutzmann JM et al. *Neurosci Lett.* 1995;201:92–96

141. Rodrigues CMP, Linehan – Steiers C, Kene CD, Maxiaoming, Kren BT, Low WC, Ster C, et al. Tauroursodeoxycholic acid partially prevents apoptosis induced by 3- nitropropionic acid: Evidence for a mitochondrial pathway independent of the permeability transition. *Journal of Neurochemistry* 2000;75: 2368 -2379.

142. Ahmad A, Syed FA, Singh S, Hadi SM. *Toxicol. Lett.* 2005;159: 1.

143. Hou RC, Chen YS, Chen CH, Chen YH, Jeng KC, J. Biomed. Sci. 2006;13: 89.

144. Kumar P, Kalonia H, Kumar A, et al. Sesamol attenuate 3-nitropropionic acid-induced Huntington-like behavioral, biochemical, and cellular alterations in rats. Journal of Asian Natural Products Research. 2009;11: 439- 450

145. Hsu DZ, Chien SP, Chen KT, Liu MY. Shock.2007; 28: 596.

146. Yang I, Calingasan NY, Chen J, Ley JJ, Becker DA, Beal MF et al. A novel azulenyl nitron antioxidant protects against MPTP and 3-nitropropionic acid neurotoxicities. Exp. Neurol. 2005;191:86–93

147. Davies SW, Beardsall K et al. Nerve growth factor selectively prevents excitotoxin-induced degeneration of striatal cholinergic neurons. Neurosci. 1992;140:161–164.

148. de Almeida LP, Zala D, Deglon N. Neuroprotective effect of a CTNF – expressing lentiviral vector in the quinolinic acid rat model of Huntington’s disease. Neurobiol. 2001;8:433–446

149. Perez-Navarro E, Arnas E, Marco S, Alberch J. Intra-striatal grafting of a GDNF-producing cell line protects striatonigral neurons from quinolinic acid excitotoxicity in vivo. Eur. J. Neurosci. 1999;11:241–249.

150. McBride JL, During MJ, Wu J, Chen E-Y, Leurgans SE, Kordower JH. Structural and functional neuroprotection in a rat model of Huntington's disease by viral gene transfer of GDNF. *Experimental Neurology*. 2003;181:213–223

151. Beal MF. Neurochemistry and toxin models in Huntington's disease. *Curr Opin Neurol*.1994;7: 542–547.

152. Schilling G, Coonfield ML, Ross ca, Borchelt DR. *Neurosci*.2001;315:149–153.

153. Yang L, Calingasan NY, Wille EJ, Cormier K, Smith K, Ferrante RJ, Beal MF, et al. Combination therapy with Coenzyme q10 and creatine produces additive neuroprotective effects in a model of Parkinson's and Huntington's disease. *Journal of Neurochemistry*. 2009;109: 1427–1439

154. Hockly E, Richon VM, Woodman B, Smith DL, Xianbo Zhou X, Rosa E, Sathasivam K, Ghazi-Noori S, Mahal A, Philip A. S. Lowden, J S. Steffan J. Marshel L, Thompsonss LM, Lewis CM, Marks PA Bates GP, et al. Suberoylanilide hydroxamic acid, a histone deacetylase inhibitor, ameliorates motor deficits in a mouse model of Huntington's disease. *Neuroscience*. 2003; 100:2041–2046

155. Gardian G, Browne SE, Choi D, Klivenyi P, Gregorio J, Kubilus JK, Ryu H, Langley B, Ratan RV, Ferrante RJ, Beal MF, et al. Neuroprotective effects of phenylbutyrate in the N171-82Q transgenic Mouse model of Huntington's disease. *The Journal of Biological Chemistry*. 2005; 280:556–563.

156. Carmichael J, Sugars KL, Bao YP, Rubinsztein DC. Glycogen synthase kinase-3b inhibitors prevent cellular polyglutamine toxicity caused by the Huntington's disease mutation. *The Journal of Biological Chemistry*. 2002;277: 33791 – 33798

157. Ferrante RJ, Ryu H, Kubilus JK, D'Mello S, Sugars KL, Lee J, Lu P, Smith K, Browne S, Beal MF, Kristal BS, Stavrovskaya IG, Hewett S, Rubinsztein DC, Langley B, Ratan RR et al. Chemotherapy for the Brain: The Antitumor Antibiotic Mithramycin Prolongs Survival in a Mouse Model of Huntington's Disease. *Geriatric Research and Education and Clinical Center, Veterans Administration Medical*. 2004; 24:10335–10342

158. Jones Jr DE, Cui DM, Miller DM et al.. Expression of beta-galactosidase under the control of the human c-myc promoter in transgenic mice is inhibited by mithramycin. *Oncogene*. 1995; 10:2323–2330.

159. Lee ST, Chu K, Park J-E, Kang L, Ko S-Y, Jung KH, Kim M, et al. Memantine reduces striatal cell death with decreasing calpain level in 3-nitropropionic model of Huntington's disease. *Brain Research*. 2006;1118:199–207

160. Smolensky MH, Peppas Na. et al. Chronobiology, drug delivery, and chronotherapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007;59: 828–851.

161. Reinberg A, Smolensky MH. *Biologic Rhythms and Medicine, Cellular, Metabolic, Pathophysiologic, and Pharmacologic Aspects*, Springer-Verlag, Heidelberg, 1983, 305 pp.

162. Halberg F, Engeli M, Hamburger C, Hillman D. Spectral resolution of low frequency, small amplitude rhythm in excreted 17-ketosteroids; probable androgen-induced circaseptan desynchronization, *Acta Endocrinol.* 1965;103 5–54 (Suppl) (Copenh.).

163. Kalsbeek A, Palm IF, La Fleur SE, Scheer FA, Perreau-Lenz S, Ruitter M, Kreier F, Cailotto C, Buijs RM. SCN outputs and the hypothalamic balance of life, *J. Biol. Rhythms.* 2006; 21: 458–469.

164. Pardridge VM, Mietus LJ. Transport of albumin-bound melatonin through the blood-brain barrier, *J. Neurochem.* 34 (6) (1980) 1761–1763.

165. Le Bars D, Thivolle, Vitte PA, Bojkowski C, Chazot G, Arendt J, Frackowiak RS, Claustrat B. PET and plasma pharmacokinetic studies after bolus intravenous administration of [11C]melatonin in humans. *Int. J. Radiat. Appl. Instrum, B Nucl. Med. Biol.* 1991;18:357–362.

166. Wehr TA. The durations of human melatonin secretion and sleep respond to changes in daylength (photoperiod), *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1991;73: 1276–1280.

167. Haus E. Chronobiology in the endocrine system. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2007;59: 985–1014.

168. Wever RA. *The Circadian System of Man, Results of Experiments under Temporal Isolation*, Springer-Verlag, New York. 1979;276 pp.

169. Rutenfranz J, Knauth R, Angerbach D. Shift work research issues, in: Johnson DC, Tepas DI, Colquhoun WP, Colligan M(Eds.). *Biological Rhythms, Sleep and Shift Work*, SP Medical and Scientific Books, New York, 1981, pp. 335–346.

170. Thorne RG, Emery CR, Ala TA, Frey WH II. Quantitative analysis of the olfactory pathway for drug delivery to the brain, *Brain Res.* 1995; 692: 278–282.

171. Reinberg A. Clinical chronopharmacology. An experimental basis for chronotherapy, in: Reinberg A. M.H. Smolensky (Eds.), *Biological Rhythms and Medicine, Cellular, Metabolic, Physiopathologic and Pharmacologic Aspects*, Springer, Heidelberg, 1983, pp. 211–263.

172. Bélanger PM, Bruguerolle B. Labrecque G. Rhythms in pharmacokinetics: absorption, distribution, metabolism, and excretion, in: Redfern PH, Lemmer B. (Eds.), *Physiology and Pharmacology of Biological Rhythms, Handbook of Experimental Pharmacology*, vol. 125, Springer, Berlin, 1997, pp. 177–204.

173. Ceresa F, Angeli A, Buccuzzi G, Molino G. Once-a-day neurally stimulated and basal ACTH secretion phases in man and their response to corticoid inhibition, *J. Clin. Endocrinol.* 29 (1969) 1074–1082.

174. Askenasy JJ. Approaching disturbed sleep in late Parkinson's disease: first step toward a proposal for a revised UPDRS. *Parkinsonism Relat Disord.* 2001;8:123–131.

175. Bates GP, Harper PS, Jones L, eds (2002) Huntington's disease, Ed 3. Oxford:Oxford UP.

176. Bianchetti A, Scuratti A, Zanetti O, Binetti G, Frisoni GB, Magni E, Trabucchi M. Predictors of mortality and institutionalization in Alzheimer disease patients 1 year after discharge from an Alzheimer dementia unit. *Dementia*.1995; 6:108 –112.

177. Silvestri R, Raffaele M, De Domenico P, Tisano A, Mento G, Casella C, Tripoli MC, Serra S, Di Perri R (1995) Sleep features in Tourette's syndrome, neuroacanthocytosis and Huntington's chorea. *Neurophysiol Clin*.1995;25:66 –77.

178. Fish DR, Sawyers D, Allen PJ, Blackie JD, Lees AJ, Marsden CD . The effect of sleep on the dyskinetic movements of Parkinson's disease, Gilles de la Tourette syndrome, Huntington's disease, and torsion dystonia. *Arch Neuro*.1991;48:210 –214.

179. Kassubek J, Juengling FD, Kioschies T, Henkel K, Karitzky J, Kramer B, Ecker D, Andrich J, Saft C, Kraus P, Aschoff AJ, Ludolph AC, Landwehrmeyer B. Topography of cerebral atrophy in early Huntington's disease: a voxel based morphometric MRI study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*.2004;75:213–220.

180. Morton AJ, Wood NI, Hastings MH, Hurelbrink C, Barker A, Maywood ES, et al. Disintegration of the Sleep–Wake Cycle and Circadian Timing in Huntington's Disease. *The Journal Of Neuroscence*. 2005;25: 157–163

181. Pace-Schott EF, Hobson JA. The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat Rev Neurosci.* 2002; 3:591– 605.

182. Beuckmann CT, Sinton CM, Williams SC, Richardson JA, Hammer RE, Sakurai T, Yanagisawa M. Expression of a polyglutamine ataxin-3 transgene in orexin neurons induces narcolepsy-cataplexy in therat. *J Neurosci.* 2004;24:4469–4477.

183. Peterse´n A, Gil J, Maat-Schieman ML, Bjorkqvist M, Tanila H, Araujo IM, Smith R, Popovic N, Wierup N, Norlen P, Li JY, Roos RA, Sundler F, Mulder H, Brundin P. Orexin loss in Huntington’s disease. *Hum Mol Genet*, in press.2004.

184. Hurelbrink CB, Lewis SJG, Barker RA, et al. The use of the Actiwatch-Neurologica system to objectively assess the involuntary movements and sleep-wake activity in patients with mild-moderate Huntington’s disease. *J Neurol.* 2005;252: 642–647.

185. Petersen A, Gil J, Maat-Schieman ML, Bjo`rkqvist M, Tanila H, Araujo IM, Smith R, Popovic N, Wierup N, Norlen P, Li JY, Roos RA, Sundler F, Mulder H, Brundin P. Orexin loss in Huntington’s disease. *Hum. Mol. Genet.* 2005; 14:39–47.

186. Durso R, Tamminga CA, Ruggeri S, Denaro A, Kuo S, Chase TN. Twenty-four hour plasma levels of growth hormone and prolactin in Huntington’s disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.*1983;46: 1134–1137.

187. Petersen A, Björkqvist M, et al. Hypothalamic–endocrine aspects in Huntington’s disease. *European Journal of Neuroscience*. 2006;24: 961–967.
188. Papalexi E, Persson A, Björkqvist M, Petersen A, Woodman B, Bates GP, Sundler F, Mulder H, Brundin P, Popovic N. Reduction of GnRH and infertility in the R6 / 2 mouse model of Huntington’s disease. *Eur.J. Neurosci*. 2005;22: 1541–1546.
189. Kotliarova S, Jana NR, Sakamoto N, Kurosawa M, Miyazaki H, Nekooki M, Doi H, Machida Y, Wong HK, Suzuki T, Uchikawa C, Kotliarov Y, Uchida K, Nagao Y, Nagaoka U, Tamaoka A, Oyanagi K, Oyama F, Nukina N. Decreased expression of hypothalamic neuropeptides in Huntington disease transgenic mice with expanded polyglutamine-EGFP fluorescent aggregates. *J. Neurochem*. 2005; 93:641–653.
190. Popovic V, Svetel M, Djurovic M, Petrovic S, Doknic M, Pekic S, Miljic D, Milic N, Glodic J, Dieguez C, Casanueva FF, Kostic V. Circulating and cerebrospinal fluid ghrelin and leptin: potential role in altered body weight in Huntington’s disease. *Eur. J. Endocrinol*. 2004,151: 451–455.
191. Björkqvist M, Petersen A, Bacos K, Isaacs J, Norlen P, Gil J, Popovic N, Sundler F, Bates GP, Tabrizi SJ, Brundin P, Mulder H. Progressive Alterations in the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in the R6 / 2 Transgenic Mouse Model of Huntington’s disease. *Hum. Mol. Genet*. (2006a);15:1713–1721.

192. Parsons CG, Danysz W, Quack G. Memantin is a clinically well tolerated N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor antagonist – a review of preclinical data. *Neuropharmacology*.1999;38:735–767

193. Schneider E, Fischer P-A, Clemens R, Balzereit F, Fiinfgeld E-W, Haase H-J. Wirkungen oraler Memantin-Gaben auf die Parkinsonsymptomatik. *Dtsch Med Wochenschr*.1984; 109:987-990.

194. Meldrum BS, Turski L, Schwarz M, Czuczwar SJ, Sontag K-H. Anticonvulsant action of 1,3-dimethyl-5-aminoadamantane. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*.1986;332:93-97.

195. Song MS, Rauw G, Baker GB, Kar S, et al. Memantine protects rat cortical cultured neurons against b-amyloid-induced toxicity by attenuating tau phosphorylation. *European Journal of Neuroscience*. 2008;28: 1989–2002.

196. Chen HSV, Pellegrini JW, Aggarwal SK, Lei SZ, Warach S, Jensen FE, Lipton SA, et al. Open-channel block of N-methyl-D-aspartate(NMDA) responses by memantin: therapeutic advantage against NMDA receptor-mediated neurotoxicity. *The Journal of Neuroscience*.1992;12: 4427–4436.

197. Lipton SA. Models of neuronal injury in AIDS: another role for the NMDA receptor? *Trends Neurosci*.1992;15: 75–79.

198. Choi DW, Rothman SM. The role of glutamate neurotoxicity in hypoxic-ischemic neuronal death. *Annu. Rev. Neurosci*. 1990;13: 171–182.

199. Levy DI, Lipton SA. Comparison of delayed administration of competitive and uncompetitive antagonists in preventing NMDA receptor-mediated neuronal death. *Neurology*. 1990;40: 852–855.
200. Gafni J, Ellerby LM, et al. Calpain activation in Huntington's disease. *The Journal of Neuroscience*, 2002, 22: 4842–4849.
201. Giustizieri M, Cucchiaroni ML, Guatteo E, Bernardi G, Mercuri NB, Berretta N. et al. Memantine Inhibits ATP-Dependent K⁺ conductances in Dopamine Neurons of the Rat Substantia Nigra Pars Compacta. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*. 2007;322:721–729
202. Marvanova M, Lakso M, Pirhonen J, Nawa H, Wong G, Castren E. The Neuroprotective Agent Memantine Induces Brain-Derived Neurotrophic Factor and trkB Receptor Expression in Rat Brain. *Mol. Cell. Neurosci*, 2001; 18: 247-258.
203. Rammes G, Danysz W, Parson CG, et al. Pharmacodynamics of Memantine: An Update. *Current Neuropharmacology*. 2008; 6: 55–78.
204. Chen H-SV, Wang OYF, Rayudu QPV, Edgecomb P, Neill JC, Segal MM, Lipton SA, Jensen FE, et al. Neuroprotective concentrations of the n-methyl-d-aspartate open-channel blocker memantine are effective without cytoplasmic vacuolation following post-ischemic administration and do not block maze learning or long-term potentiation. *Neuroscience*. vol. 1998;86: 1121–1132.
205. Tozzi A, Costa C, Filippo MD, Tantucci M, Siliquini S, Belcastro V, Parnetti L, Picconi B, Calabresi P, et al. Memantine reduces neuronal

dysfunctions triggered by in vitro ischemia and 3-nitropropionic acid. *Experimental Neurology* 2007;207:218–226

206. McAllister J, Ghosh S, Berry D, Park M, Sadeghi S, Wang KX, Parker WD, Swerdlow RH, et al. Effects of memantine on mitochondrial function. *Biochemical Pharmacology*. 2008; 75: 956 – 964.

207. Diguët E, Fernagut P-O, Wei X, Du Y, Rouland R, Gross C, Bezard E, Tison F, et al. Deleterious effects of minocycline in animal models of Parkinson's disease and Huntington's disease. *European Journal of Neuroscience*. 2004; 19: 3266–3276.

X. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Dilek
Soyadı	Tümer
Doğum Yeri ve Tarihi	İskenderun / 16.07.1980
Eğitimi	
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	1998 - 2003
İskenderun Yabancı Dil Ağırlıklı Lise	1994- 1998
Yunus Emre Ortaokulu	1991- 1994
Şehit Çevik İlköğretim okulu	1987 -1991
Yabancı Dili	
İngilizce	