



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

**DOKTORA
TEZİ**

**DNA ONARIM ENZİMLERİNDEKİ GEN POLİMORFİZMLERİNİN
PARKİNSON HASTALIĞINDAKİ ETKİSİ**

NERGİS SELMA ASLAN

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞUBAT 2019



**DNA ONARIM ENZİMLERİNDEKİ GEN POLİMORFİZMLERİNİN PARKİNSON
HASTALIĞINDAKİ ETKİSİ**

Nergis Selma ASLAN

**DOKTORA TEZİ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

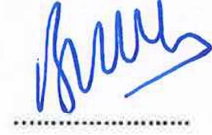
ŞUBAT 2019

Nergis Selma ASLAN tarafından hazırlanan " DNA ONARIM ENZİMLERİNDEKİ GEN POLİMORFİZMLERİNİN PARKINSON HASTALIĞINDAKİ ETKİSİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Benu KARAHALİL

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Başkan : Prof.Dr.Nurşen BAŞARAN

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

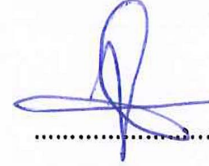
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof.Dr. Sinan SÜZEN

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof.Dr. Sevgi AKAYDIN

Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Doç Dr. Ela KADIOĞLU

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 25/ 02 /2019

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.


Nergis Selma ASLAN
25/02/2019

DNA ONARIM ENZİMLERİNDEKİ GEN POLİMORFİZMLERİNİN PARKİNSON HASTALIĞINDAKİ ETKİSİ

(Doktora Tezi)

Nergis Selma ASLAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Şubat 2019

ÖZET

Parkinson Hastalığı (PH) beyinde dopaminerjik nöronların kaybıyla ilişkili kronik ve progresif nörodejeneratif bir hastalıktır. Dopaminerjik nöronların kaybının altında yatan mekanizmalar henüz bilinmese de, oksidatif stresin dopaminerjik nörotoksisite oluşumunda hayati bir rol oynadığı düşünülmektedir. Vücut metabolizmamızın ürettiği reaktif oksijen türleri (ROT) oksidatif strese ve buna bağlı olarak hücre hasarına neden olabilir. Bu nedenle, ROT'ların vücudumuz üzerindeki olumsuz etkilerini önlemek için hücrelerin antioksidan savunma sistemleri vardır. ROT ve antioksidan sistem arasındaki denge ROT lehine değişirse, bu durum birikmiş DNA hasarına neden olabilir. Sağlıklı olan her organizmada genomik stabilitenin devamlılığı için meydana gelen DNA hasarının onarılmasını sağlayan çeşitli DNA onarım mekanizmaları bulunmaktadır. BER bunlardan biridir. OGG1, XRCC1, MTH1 enzimleri BER mekanizmasındaki majör enzimlerdendir. Bu çalışmanın amacı *OGG1*, *XRCC1* ve *MTH1* DNA onarım enzimlerindeki *Ser326Cys*, *Arg399Gln* ve *Val83Met* gen polimorfizmlerinin PH ile ilişkisini araştırmaktır. Çalışmaya PH teşhisi konmuş 102 hasta ile benzer özelliklerde fakat sağlıklı 97 birey dahil edildi. Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (PCR-RFLP) metodu ile yapılan genotipleme çalışmasının ardından *OGG1 Ser326Cys* genotipi ve *MTH1 Val83Met* genotipi ile PH arasında anlamlı bir ilişki olmadığı belirlendi. Bunun yanı sıra PH'lı bireylerde *OGG1 Ser326* yabanıl tipinin belirgin oranda, *MTH1 Val83* yabanıl tipinin az miktarda arttığı gözlemlendi. Diğer taraftan, *XRCC1 Arg399Gln* polimorfizmi taşıyan bireylerde *Arg/Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg/Gln* heterozigot ve *Gln/Gln* varyant genotipi taşıyanlarda PH görülme riskinin belirgin ölçüde arttığı tespit edildi (p: 0,046 OR: 1,910; %95 GA 1,013-3,603 ve p:0,006 OR:3,742; %95 GA 1,470-9,525 sırasıyla). DNA hasarı onarımında etkili rol alan *OGG1*, *XRCC1* ve *MTH1* genlerinin polimorfizmlerinin araştırılması PH sürecinde genetik polimorfizmin etkisinin daha iyi açıklanmasına yardımcı olabilecektir.

Bilim Kodu : 1021

Anahtar Kelimeler : Parkinson hastalığı, genetik polimorfizm, *hOGG1 Ser326Cys*, *XRCC1 Arg399Gln*, *MTH1 Val83Met*, BER, DNA onarım genleri

Sayfa Adedi : 133

Danışman : Prof. Dr. Bensu KARAHALİL

THE IMPACT OF DNA REPAIR GENE POLYMORPHISM ON PARKINSON DISEASE

(PhD Thesis)

Nergis Selma ASLAN

GAZI UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

February 2019

ABSTRACT

Parkinson's Disease (PD) is a chronic and progressive neurodegenerative disease in the brain associated with the loss of dopaminergic neurons. Although the mechanisms underlying the loss of dopaminergic neurons have not known yet, oxidative stress is thought to play a vital role in the formation of dopaminergic neurotoxicity. Reactive oxygen species (ROS) that are generated by our body metabolism can induce oxidative stress and then result in cell damage. Therefore, cells have antioxidant defense system to prevent ROS's adverse effects on our body. If the balance between ROS and antioxidant system changes in favor of ROS, this situation can cause accumulated DNA damage. There are various DNA repair mechanisms to continue genomic stability in every healthy organism like BER. *OGG1*, *XRCC1*, *MTH1* enzymes are among the major enzymes in the BER mechanism. The aim of this study was to investigate the associations between the risk of PD and *Ser326Cys*, *Arg399Gln* and *Val83Met* polymorphisms in *hOGG1*, *XRCC1* and *MTH1* DNA repair enzymes, respectively. The study included 102 patients with PD and 97 healthy subjects with similar characteristics. Following genotyping study performed by Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polimorphism (PCR-RFLP) method, there was no significant relationship between *OGG1 Ser326Cys* genotype, *MTH1 Val83Met* genotype and PD. In addition, it was observed that the wild type of *OGG1 Ser326* increased significantly and wild type of *MTH1 Val83* increased slightly in PD patients. On the other hand, in individuals with *XRCC1 Arg399Gln* polymorphism, the risk of PD was found to be significantly higher in patients with Arg / Gln heterozygote and Gln / Gln variant genotype compared to those carrying the Arg / Arg genotype (p: 0.046 OR: 1.910; 95% CI 1.013-3, 603 and p: 0.006 OR: 3,742; 95% CI, 1,470-9,525, respectively). Investigating the polymorphisms of *OGG1*, *XRCC1* and *MTH1* genes that play a crucial role in DNA damage repair may help to better explain the impact on genetic polymorphism in PD process.

Science Code : 1021

Key Words : Parkinson's disease, genetic polymorphism, *hOGG1 Ser326Cys*, *XRCC1 Arg399Gln*, *MTH1 Val83Met*, BER, DNA repair genes

Page Number : 133

Advisor : Prof. Dr. Bensu KARAHALIL

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince gösterdiği anlayışlı yaklaşımla yanımda olan, çok kıymetli bilgileri ve donanımı ile çalışmalarına ışık tutan, sevgi ve saygı duyduğum kıymetli hocam Prof. Dr. Bensu KARAHALİL' e, eğitimim esnasında hiçbir zaman yardımını ve desteğini esirgemeyen Uzm. Ecz. Aylin ELKAMA' ya, tezimin laboratuvar çalışmalarını yapabilmem için araştırma laboratuvarlarındaki tüm olanakları kullanmama izin veren Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanlığına ve Öğretim Üyelerine, ihtiyaç duyduğum her an yanımda olan, bana duydukları sonsuz sevgi ve güvenle her türlü zorluğu aşacağıma inancımı her zaman canlı tutan canım aileme yürekten teşekkürlerimi sunarım.



Aileme....

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xv
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xviii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Parkinson Hastalığı ve Tarihçesi	3
2.2. Parkinsonun Oluşumu	6
2.2.1. Parkinson hastalığını oluşturan nörodejenerasyonun patofizyolojik temelleri	7
2.3. Yaşlılık ve Parkinson.....	16
2.3.1. Yaşlanmaya neden olan mekanizmalarla ilgili olası teoriler	16
2.4. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Parkinson	17
2.4.1. Mitofaji.....	19
2.4.2. Parkinson Hastalığı ve Parkinsonizm.....	19
2.5. Endoplazmik Retikulum Stresi ve Parkinson	20
2.6. Bozulmuş Otofaji ve Parkinson	21
2.7. Lipit Peroksidasyonu ve Parkinson	21
2.8. Nöroinflamasyon ve Parkinson	22
2.8.1. Tümör Nekrosis Faktör.....	25

Sayfa

2.9. Oksidatif Stres.....	26
2.9.1. Reaktif oksijen türleri	26
2.9.2. Antioksidan yolak.....	27
2.9.3. Beyin ve oksidatif stres	29
2.9.4. Nörodejeneratif hastalıklar ve oksidatif stres	30
2.10. Parkinsonun Etiyoloji / Patofizyoloji ve Klinik Belirtileri.....	32
2.11. Parkinsonda Teşhis ve Tedavi	33
2.12. DNA Hasarı ve Oluşum Mekanizması	35
2.12.1. DNA’da oluşan hasar çeşitleri	36
2.12.2. DNA onarım mekanizmaları	37
2.13. 8-Hidroksiguanin DNA Glikozilaz (<i>hOGG1</i>)	46
2.14. X-Ray Çapraz Tamamlayıcı Protein 1 (<i>XRCC1</i>).....	50
2.15. İnsan Mut T Protein 1 (<i>hMTH1</i>)	53
3. GEREÇ VE YÖNTEM	57
3.1. Çalışma Grupları	57
3.2. Etik Kurul Onayı	57
3.3. Çalışma Grubundan Biyolojik Materyalin Toplanması ve Saklanması	57
3.4. DNA İzolasyonu	58
3.4.1. DNA izolasyonunda kullanılan araç ve gereçler	58
3.4.2. DNA izolasyonunda kullanılan kimyasal maddeler	59
3.4.3. DNA İzolasyonunda Gerekli çözeltiler.....	59
3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi- Restriction Fragment Length Polimorfizmi- (RFLP).....	61
3.5.1. PCR’ın bileşenleri	62
3.5.2. Polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon fragman uzunluk polimorfizminde kullanılan alet ve gereçler	62

3.5.3. Polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon fragman uzunluk polimorfizminde kullanılan kimyasal maddeler	62
3.5.4. Elektroforezde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı.....	65
3.5.5. Polimeraz zincir reaksiyonu ile DNA fragmanlarının çoğaltılması.....	66
3.5.6. Polimeraz zincir reaksiyonu ürünlerinin jele uygulanması ve elektroforez.....	68
3.5.7. Gen polimorfizmlerinin kesim ve inkübasyonları.....	68
3.6. İstatiksel Analiz	71
4. BULGULAR	73
4.1. <i>OGG1 Ser326Cys</i> Polimorfizmi	73
4.2. <i>XRCC1 Arg 399 Gln</i> Polimorfizmi.....	74
4.3. <i>MTH1 Val 83 Met</i> Polimorfizmi.....	76
4.4. Hasta ve Kontrol Grubuna Ait Demografik Bulgular	77
4.5. Kontrol Ve Parkinsonlu Hasta Gruplarının Genotip Analizleri	79
4.6. <i>hOGG1</i> , <i>XRCC1</i> ve <i>hMTH1</i> Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Allel Frekans Dağılımları	79
4.7. <i>hOGG1</i> , <i>XRCC1</i> ve <i>hMTH1</i> Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi	81
4.8. <i>hOGG1</i> , <i>XRCC1</i> ve <i>hMTH1</i> Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Sigara Kullanımı ve Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi.....	82
4.9. <i>hOGG1</i> , <i>XRCC1</i> ve <i>hMTH1</i> Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Diabetes Mellitus Öyküsü ve PH Riski Üzerine Etkisi	83
4.10. <i>hOGG1</i> , <i>XRCC1</i> ve <i>hMTH1</i> Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Alkol Kullanımı ve Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi.....	84
4.11. <i>hOGG1</i> , <i>XRCC1</i> ve <i>hMTH1</i> Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Kahve İçme Alışkanlığı ve Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi	86
4.12. <i>hOGG1</i> , <i>XRCC1</i> ve <i>hMTH1</i> Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Çay İçme Alışkanlığı ve Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi	87

Sayfa

4.13. <i>hOGG1</i> , <i>XRCC1</i> ve <i>hMTH1</i> Genlerinin Incelenen Genetik Polimorfizmlerinin Yaşlanma ve Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi	88
4.14. <i>hOGG1</i> , <i>XRCC1</i> ve <i>hMTH1</i> Genlerinin Incelenen Genetik Polimorfizmlerinin Cinsiyet Ve Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi.....	89
4.15. Hastaların Genel Özelliklere Göre Düzeltmeler Yapıldıktan Sonra <i>OGG1 Ser326Cys</i> Genotipleri ile Parkinson Hastalık Riskinin Değerlendirilmesi	91
4.16. Hastaların Genel Özelliklere Göre Düzeltmeler Yapıldıktan Sonra <i>XRCC1 Arg399Gln</i> Genotipleri ile Parkinson Hastalık Riskinin Değerlendirilmesi	92
4.17. Hastaların Genel Özelliklere Göre Düzeltmeler Yapıldıktan Sonra <i>MTH1 Val83Met</i> Genotipleri ile Parkinson Riskinin Değerlendirilmesi.....	94
5.TARTIŞMA	97
6. SONUÇ	109
KAYNAKLAR	111
EKLER.....	129
Ek 1. Çalışmaya Katılan Her Birey İçin Doldurulan Anket Formu Örneği	130
Ek 2. Etik Kurul Onayı	131
ÖZGEÇMİŞ	133

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. PH Bağlantılı α -sinükleinin mutasyonları ve patojenler.....	9
Çizelge 2.2. PH Bağlantılı LRRK2 mutasyonları ve patojenler.....	10
Çizelge 2.3. PH bağlantılı PINK1 ve Parkin mutasyonları ve patojenler	11
Çizelge 2.4. PH bağlantılı DJ-1 mutasyonları ve patojenler	12
Çizelge 2.5. PH bağlantılı VPS35 mutasyonları ve patojenler	13
Çizelge 2.6. PH bağlantılı GBA1 mutasyonları ve patojenler	14
Çizelge 2.7. Dopaminerjik nöronların ölümünü içeren ana mekanizmalar	15
Çizelge 2.8. Serbest radikal oluşturan endojen ve ekzojen etmenler	27
Çizelge 2.9. Bazı antioksidanlar	27
Çizelge 2.10. Oksidatif Stres ve İlgili Patolojiler	28
Çizelge 2.11. Parkinson Hastalığının Genel Semptom ve Belirtileri.....	33
Çizelge 2.12. Parkinson Hastalığında Yaygın Olarak Kullanılan İlaçlar	34
Çizelge 4.1. <i>hOGG1</i> enzimi Sat I ile kesim ürünleri.....	74
Çizelge 4.2. <i>XRCC1</i> enzimi MspI ile kesim ürünleri.....	75
Çizelge 4.3. <i>MTH1</i> enzimi NsiI ile kesim ürünleri.	77
Çizelge 4.4. Hasta ve kontrol gruplarına ait genel özellikler.....	78
Çizelge 4.5. <i>OGG1 Ser326Cys</i> polimorfizmine ait allel frekans dağılımı.....	80
Çizelge 4.6. <i>XRCC1 Arg399Gln</i> polimorfizmine ait allel frekans dağılımı	80
Çizelge 4.7. <i>MTH1 Val83Met</i> polimorfizmine ait allel frekans dağılımı	80
Çizelge 4.8. <i>hOGG1 Ser326Cys</i> genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi.....	81
Çizelge 4.9. <i>XRCC1 Arg399Gln</i> genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi.....	81
Çizelge 4.10. <i>MTH1 Val83Met</i> genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi.....	82

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.11. <i>hOGG1 Ser326Cys</i> genotiplerine göre sigara kullanımında Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi	82
Çizelge 4.12. <i>XRCC1 Arg399Gln</i> genotiplerine göre sigara kullanımında Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi	83
Çizelge 4.13. <i>MTH1 Val83Met</i> genotiplerine göre sigara kullanımında Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi	83
Çizelge 4.14. Diyabet hastası olanlarda <i>hOGG1 Ser326Cys</i> genotiplerine göre Parkinson riskinin değerlendirilmesi	83
Çizelge 4.15. Diyabet hastası olanlarda <i>XRCC1 Arg399Gln</i> genotiplerine göre Parkinson riskinin değerlendirilmesi	84
Çizelge 4.16. Diyabet hastası olanlarda <i>MTH1 Val83Met</i> genotiplerine göre Parkinson riskinin değerlendirilmesi	84
Çizelge 4.17. <i>hOGG1 Ser326Cys</i> genotiplerine göre alkol alanlarda Parkinson Hastalık riskinin değerlendirilmesi	85
Çizelge 4.18. <i>XRCC1 Arg399Gln</i> genotiplerine göre alkol alanlarda Parkinson Hastalık riskinin değerlendirilmesi	85
Çizelge 4.19. <i>MTH1 Val83Met</i> genotiplerine alkol alanlarda Parkinson Hastalık riskinin değerlendirilmesi.....	86
Çizelge 4.20. <i>hOGG1 Ser326Cys</i> genotiplerine göre kahve kullananlarda Parkinson Hastalık riskinin değerlendirilmesi	86
Çizelge 4.21. <i>XRCC1 Arg399Gln</i> genotiplerine göre kahve kullananlarda Parkinson Hastalık riskinin değerlendirilmesi	86
Çizelge 4.22. <i>MTH1 Val83Met</i> genotiplerine göre kahve kullananlarda Parkinson Hastalık riskinin değerlendirilmesi	87
Çizelge 4.23. <i>hOGG1 Ser326Cys</i> genotiplerine göre çay içenlerde Parkinson riskinin değerlendirilmesi.....	87
Çizelge 4.24. <i>XRCC1 Arg399Gln</i> genotiplerine göre çay içenlerde Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi.....	88
Çizelge 4.25. <i>MTH1 Val83Met</i> genotiplerine göre çay içenlerde Parkinson riskinin değerlendirilmesi.....	88
Çizelge 4.26. 65 yaş ve üzeri bireylerde <i>hOGG1 Ser326Cys</i> genotiplerine göre Parkinson riskinin değerlendirilmesi	88

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.27. 65 yaş ve üzeri bireylerde <i>XRCC1 Arg399Gln</i> genotiplerine göre Parkinson riskinin değerlendirilmesi	89
Çizelge 4.28. 65 yaş ve üzeri bireylerde <i>MTH1 Val83Met</i> genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi	89
Çizelge 4.29. Cinsiyet sabit tutulduğunda <i>hOGG1 Ser326Cys</i> genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi	89
Çizelge 4.30. Cinsiyet sabit tutulduğunda <i>XRCC1 Arg399Gln</i> genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi	90
Çizelge 4.31: Cinsiyet sabit tutulduğunda <i>MTH1 Val83Met</i> genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi	91
Çizelge 4.32. Hastaların genel özelliklere göre düzeltmeler yapıldıktan sonra <i>OGG1 Ser326Cys</i> genotipleri ile Parkinson riskinin değerlendirilmesi – çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları –.....	91
Çizelge 4.33. Hastaların genel özelliklere göre düzeltmeler yapıldıktan sonra <i>XRCC1 Arg399Gln</i> genotipleri ile Parkinson riskinin değerlendirilmesi – çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları –.....	93
Çizelge 4.34. Hastaların genel özelliklere göre düzeltmeler yapıldıktan sonra <i>MTH1 Val83Met</i> genotipleri ile Parkinson riskinin değerlendirilmesi – çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları –.....	94

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Dopaminerjik Hücre Nörodejenerasyon Mekanizması.....	15
Şekil 2.2. SSS'de hücre kaynaklı demiyelinizasyon ve nörodejenerasyonun şematik sunumu.	23
Şekil 2.3. Oksidatif stres / inflamasyon mediyatörleri ile antioksidanlar / anti-inflamatuvar mediatörler arasındaki denge	24
Şekil 2.4. ROT ve nörodejenerasyondaki inflamatuvar sitokinler arasındaki ilişki.....	26
Şekil 2.5. Hastalıkların gelişiminde ROT'lar.	28
Şekil 2.6. Oksidatif Stresin göstergeleri.....	29
Şekil 2.7. Nöronal dejenerasyona sebep olan oksidatif stres öncesi ve sonrası antioksidanların stratejisi.....	30
Şekil 2.8. <i>OGG1</i> : DNA da oluşan 8-oksoG'yi atan 8-OksoGuanin DNA glikozilaz enzimi.....	32
Şekil 2.9. DNA Lezyonları ve Onarım Mekanizmaları	37
Şekil 2.10. Memelilerde BER yolağı ve alt yolakları	39
Şekil 2.11. Birleştirilmiş BER modeli.....	41
Şekil 2.12. Çekirdek NER reaksiyonu için model.....	42
Şekil 2.13. Transkripsiyon ve onarımda TC-NER, GG-NER ve TFIIH'nin rolü	43
Şekil 2.14. Mismatch onarımı.....	45
Şekil 2.15. DNA Onarım Genlerindeki SNP'ler	45
Şekil 2.16. 3.kromozomda <i>OGG1</i> genini kodlayan bölge.....	46
Şekil 2.17. ROT ve <i>OGG1</i> 'in genomik 8-oksoguanine bağlanması ile gen ekspresyonunun kolaylaşması	47
Şekil 2.18. Transkripsiyonel olarak aktif genler, GC'nin zengin kromatin fraksiyonuna gömülür.....	48
Şekil 2.19. DNA tarafından başlatılan BER yolağı.	50
Şekil 2.20. <i>XRCC1</i> ve en yaygın polimorfizmleri	51

Şekil	Sayfa
Şekil 2.21. <i>Arg399Gln</i> Polimorfizminin Yapısı	52
Şekil 2.22. 7. Kromozomda <i>MTH1</i> genini kodlayan bölge.....	53
Şekil 2.23. ROT nedeniyle oluşan G:C'den T:A'ya ve A:T'den C:G'ye transversiyon	55
Şekil 3.1. PCR'in basamakları	64
Şekil 3.2. 3p25. kromozomda <i>OGG1</i> 'in PCR ile çoğaltılan gen sekansı,PCR ürün boyutu ve primer dizileri	66
Şekil 3.3. 19q13.31. kromozomda <i>XRCC1</i> 'in PCR ile çoğaltılan gen sekansı,PCR ürün boyutu ve primer dizileri	67
Şekil 3.4. 7p22. kromozomda <i>MTH1</i> 'in PCR ile çoğaltılan gen sekansı, PCR ürün boyutu ve primer dizileri	68
Şekil 3.5. <i>Sat I</i> restriksiyon enzimi uygulanan 207 bç'lik gen sekansı	69
Şekil 3.6. <i>MspI</i> restriksiyon enzimi uygulanan 871 bç'lik gen sekansı	70
Şekil 3.7. <i>NSI</i> restriksiyon enzimi uygulanan 247 bç'lik gen sekansı	71
Şekil 4.1. <i>OGG1 Ser326Cys</i> polimorfizminin <i>Sat 1</i> ile kesimi.....	73
Şekil 4.2. <i>XRCC1 Arg399Gln</i> polimorfizminin <i>MspI (HpaII)</i> ile kesimi	75
Şekil 4.3. <i>MTH1 Val83Met</i> polimorfizminin <i>NsiI</i> kesim enzimi ile kesimi.....	77
Şekil 4.4. Kontrol ve hasta gruplarının <i>OGG1 Ser326Cys</i> , <i>XRCC1 Arg399Gln</i> ve <i>MTH1 Val83Met</i> genotip dağılımları	79

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. <i>OGG1 Ser326Cys</i> polimorfizmi ve kesim ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi.....	74
Resim 4.2. <i>XRCC1 Arg399Gln</i> polimorfizmi ve kesim ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi.....	76
Resim 4.3. <i>MTH1 Val83Met</i> polimorfizmi ve kesim ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi.....	77



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıdadır.

Simgeler	Açıklamalar
A	Alfa
Fe⁺²	Demir iyonu
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HCl	Hidroklorik asit
HO₂	Hidroperoksil
HOCl	Hipokloröz asit
mg	Miligram
MgCl₂	Magnezyum klorür
ml	Mililitre
Mn	Mangan
O₂⁻	Süperoksit radikali
OH⁻	Hidroksil radikali
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
Kısaltmalar	Açıklamalar
8-OHG	8-hidroksiguanin
A	Adenin
AGT / MGMT	O6-alkilguanin-DNA alkiltransferaz enzimi
ALS	Amyotrofik lateral skleroz
AP	Apirimidinik/apürinik
APE1	AP endonükleaz 1
APEX 1	İnsan AP endonükleaz 1
Arg	Arjinin
ATF6	Aktive olmuş transkripsiyon faktörü 6

Kısaltmalar**Açıklamalar****BER**

Baz çıkarma onarımı; base excision repair

bç

Baz çifti

C

Sitozin

COFS

Serebro-Oculo-Facio-Skeletal sendromu

COMT

katekol-O-metil transferaz enzimi

CS

Cockayne Sendromu

CSA

Cockayne sendromu grup A

CSB

Cockayne sendromu grup B

Cys

Sistein

CETN2

Centrin 2

DAergic

Dopaminerjik

DDB

DNA hasar bağı (DNA damage binding)

dRP

Deoksiriboz fosfat

DOPA

3,4 dihidroksi fenil alanin

E.coli

Escherichia coli

ER

Endoplazmik retikulum

ESRD

Son dönem böbrek hastalığı

FAPyG

2, 6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin

FEN-1

Flap endonükleaz-1

Fpg, MutM

Formamidopirimidin-DNA glikozilaz

G

Guanin

GBA1

Glukoserebrosidaz 1

GS

Gaucher sendromu

GG-NER

Global genomik nükleotit çıkarma onarımı (Global genomic nucleoid excision repair)

Gln

Glutamin

G

Guanin

GPX

Glutatyon Peroksidaz

Kısaltmalar	Açıklamalar
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HNE	4-hidroksi 2-nonenal
HNPCC	Kalıtımsal nonpolipozis kolorektal kanser (Lynch sendromu)
<i>hMTH1</i> (NUD1)	İnsan Mut T Protein 1
<i>hOGG1</i>	İnsan 8-hidroksi guanin glikozilazı
H ₂ OCl	Hipokloröz anyonu
IRE1a	İnositol gerektiren enzim 1a
KBB	Kan beyin bariyeri
siRNA	Küçük enterferans RNA
KPT	Katlanmamış protein kinaz
L-dopa	Levodopa
LIG3a	DNA ligaz Işık University Visual Communication Design Program
LRRK 2	Lösin açısından zengin repeat kinaz 2
MAO	Monoaminoksidaz
MDA	Malondialdehit
Met	Metiyonin
MMR	Yanlış eşleşme onarımı (mismatch repair)
MPG	N-metilpurin DNA glikozilaz
MPTP	1-metil-4-fenil-1, 2, 3, 6-tetrahidro piridin
MR	Manyetik rezonans
MSH	MutS homologları
mtDNA	Mitokondriyal DNA
MutYH	MutY homoloğu
nDNA	Nükleer DNAA
NE	Norepinefrin
NEIL1	Nei benzeri DNA glikozilaz 1
NEIL2	Nei benzeri DNA glikozilaz 2

Kısaltmalar	Açıklamalar
NER	Nükleotit çıkarma onarımı (Nucleotide excision repair)
NNK	Tütünde bulunan (metilnitrosamino) -1- (3-piridil) -1-butanol
NO	Nitrik monoksit
ONOO-	Peroksinitrit
PAH	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
PARP 1	Poli adenzin difosfat riboz polimeraz 1
PCNA	Prolifere edici hücre nükleer antijen (Proliferating nuclear antigen)
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PERK	ER kinaz benzeri PRKR
PH	Parkinson hastalığı
PINK 1	PTEN kaynaklı putatif kinaz
Pol b	DNA polimeraz beta
PUA	Polidoymamış aldehit
RAD23B	UV kesip-çıkarma onarım proteini Radyasyon duyarlı 23B
RFC	Replikasyon faktör C
RFLP	Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (Restriction fragment length polymorphism)
ROT	Reaktif oksijen türleri
RNT	Reaktif nitrojen türleri
Ser	Serin
SN	Substantia nigra
SNpc	Substantia nigra pars compacta
SNP	Tek nükleotit polimorfizmi (Single nucleotide polymorphism)
SOD	Süperoksit dismutaz
SsDNA	single-stranded DNA

Kısaltmalar	Açıklamalar
SSS	Santral sinir sistemi
T	Timin
TC-NER	Transkripsiyonla bağlantılı NER
TFIIH	Transkripsiyon faktörü IIH
TNF	Tümör nekrozis faktör
TNF1	TNF reseptör 1
TH	Trozin hidroksilaz
UCHL1	Ubiquitin karboksi terminal hidroksilaz 1
Val	Valin
VBS35	Vacular protein sorting 35
XBP1	X-Box bağlayıcı protein 1
XPC	Xeroderma Pigmentosum, kompleman C
XRCC1	X Ray çapraz tamamlayıcı protein 1 (X-ray repair cross complementing 1)

1. GİRİŞ

Parkinson hastalığı (PH) Alzheimer'den sonra ikinci en sık görülen kronik ve progresif nörodejeneratif bir hastalıktır. Beyindeki gri cevher çekirdekleri olarak bilinen substantia nigra pars compacta (SNpc)'daki dopaminerjik nöronların kaybıyla ilişkilidir. Ancak hastalığa sebep olan bu nigral dejenerasyonun altında yatan mekanizmalar henüz bilinmemektedir (de Lau ve Breteler, 2006). PH çok sayıda temel hücresel süreci etkileyen genetik ve çevresel faktörlerin kompleks etkileşiminden kaynaklanmaktadır. PH'nın bu kompleks oluşumuna, hastalığın erken evrelerinde kesin bir teşhis konamaması ve sonraki evrelerde semptomların yönetimindeki klinik zorluklar eşlik eder. Ayrıca, şimdilik nörodejeneratif süreci yavaşlatan bir tedavi yoktur (Kalia ve Lang, 2015).

Yaşlılıkta daha fazla tetiklenen oksidatif stresin dopaminerjik nörotoksisite oluşumunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Beyindeki genetik bütünlüğün kararlılığı Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklardan korunmak için temel gerekliliktir. Ancak organizmada yaşlılığın yanısıra çeşitli endojen fizyolojik prosesler veya çevresel ajanlar nedeniyle oluşan reaktif oksijen türleri (ROT)'nin üretimi nedeniyle genetik bütünlüğü korumak oldukça güçtür. ROT'lar hücresel makromoleküllere zarar verirler (Radak ve diğerleri, 2011). ROT tarafından oluşturulan oksidatif DNA hasarı kansere, mutasyonlara ve nörodejeneratif hasarlar da dâhil olmak üzere çeşitli hastalıklara neden olur. Yaşlanan dünyada bu yaşlanmayla birlikte kronik ve nörodejeneratif hastalıkların meydana gelme oranı ve sağlık sektöründeki tedavi harcamaları da artırmıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) tahminine göre, nörodejeneratif hasta sayısı 2040 yılında 70 milyon, 2050 yılında da 106 milyonu aşacak ve böylece yaşlılar için yapılan sağlık harcamaları %50'lere ulaşacaktır (Amor ve diğerleri, 2013).

Parkinson 65 yaş üstü yaşlıların yaklaşık %1-2'sini, 80 yaş üstü yaşlıların ise %4'ünü etkilemektedir. Amerika'da her yıl 60.000 kişiye hastalık teşhisi konulmaktadır.(Dorsey ve diğerleri, 2007). Etnik farklılıklar veya çevresel faktörler nedeniyle Türkiye'de PH standart prevalansı 202/100.000 ile Avrupa ülkelerinden biraz daha düşüktür (Durmus ve diğerleri, 2015).

Artan yaşam süresi, PH'lı hastaların sayısının da artacağını düşündürmekte ve 2030 yılında bu sayının %50'den fazla artmış olacağı beklenmektedir (Dorsey ve diğerleri, 2007; Willis ve diğerleri, 2010). Erkekler kadınlardan, Avrupalılar da Afrikalı Amerikalı ve Asyalılardan daha fazla PH'dan etkilenmektedirler (Willis ve diğerleri, 2010). Cinsiyetin PH'ya etkisi östrojenin koruyuculuğu nedeniyle açıklanabilir (Schnabel, 2010).

Oksidatif hasara uğramış makromoleküllerden proteinler, lipitler ve RNA'da meydana gelen hasarlar devam eden biyosentez döngüsü ile degradasyona ve geri dönüşüme uğrayarak yok edilse de genomik stabilitenin devamlılığı için DNA lezyonlarının onarılması gerekmektedir (Radak ve diğerleri, 2011; Friedberg, 2015). Bu nedenle çeşitli DNA onarım mekanizmaları vardır. ROT üretimi ile bu koruyucu onarım mekanizmaları arasındaki denge ROT'lar lehine bozulduğunda oksidatif stres ortaya çıkar ve hücreler hasar görür. Organizmada oksidatif DNA hasarına karşı onarıcı mekanizmalardan biri baz kesip çıkarma onarımıdır (BER). İnsanda *hOGG1* geni tarafından kodlanan ve DNA onarım enzimlerinden birisi olan *OGG1* (8-oksoguanin glikozilaz 1) enzimi BER'i başlatır (Fukae ve diğerleri, 2005). *OGG1* hasarlı bazı çıkarıp uzaklaştırır ve apürinik veya apirimidik bir bölge (AP alanı) oluşturur. DNA polimeraz *XRCC1* enzimi bu AP boşluğunu, doğru nükleotit ile doldurur. Yine *MTH1* geni replikasyon ve transkripsiyon sırasında DNA veya RNA'daki okside olmuş nükleozit trifosfatların yanlış birleşmesiyle oluşabilecek mutasyonları engelleyerek yanlış bilgi birikimini önler (National Center for Biotechnology Information c, 2018).

DNA'dan 8-okso guanin gibi oksitlenmiş guanini atan *OGG1* enzimi ve bu enzimin geni polimorfizmlerinin analizi önem taşımaktadır. Benzer şekilde BER'deki görevleri nedeniyle *XRCC1* ve *MTH1* genleri de bilim insanlarının merak konusu olmuştur. DNA onarım mekanizmasındaki bu tür enzimlere ait genlerin polimorfizminin DNA'nın onarım kapasitesini azaltması, "Parkinson gibi hastalıkların oluşumuna da zemin hazırlayabilir mi" sorusunu akla getirmiştir. Ülkemizde ve tüm dünyada DNA onarım enzimlerinden *OGG1*; *Ser326Cys*, *XRCC1*; *Arg399Gln* ve *MTH1*; *Val83Met* polimorfizmi ile Parkinson arasındaki ilişkinin değerlendirildiği çalışmaların sayısı çok kısıtlıdır.

Bu çalışmanın amacı, DNA onarım enzimlerindeki bu gen polimorfizmlerinin PH'ya etkisi olup olmadığının incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Parkinson Hastalığı ve Tarihçesi

1817'de, bir İngiliz doktor olan Dr. James Parkinson, ilk olarak hastalığa felç ataklarının patolojik karakteristiği olan, Türkçe'ye titrek felç olarak çevirebileceğimiz "shaking palsy" adını vermiş, shaking palsy ifadesini hareketlerde yavaşlama, kaslarda sertlik, yürüme gibi bazı otomatik hareketlerin sürdürülmesinde zorluk, konuşma ve mimiklerde bozulma, ellerde titreme gibi bulguların tümünü kapsayan bir ifade olarak kullanmıştır (Zeng ve diğerleri, 2018). Hastalık daha sonra 1862' de Charcot ve Vulpian tarafından "Parkinson Hastalığı" olarak anılmıştır (Goedert ve diğerleri, 2017).

James Parkinson konuyla ilgili yazdığı denemesine de "shaking palsy" adını vermiş ve hastalıktan otomatik olarak çalışan kasların bile etkilendiğini, yutkunmanın zorlaştığını, sallantının yaygınlaştığını ve en sonunda, bağırsakların hareket ettirilmesi için bile " kayda değer güce sahip ilaçları almak" gerektiğini belirtmiştir (Schnabel, 2010). Parkinson tarafından bildirilen bu yaygın semptomlar listesine, modern nörologlar, koku hassasiyetinde azalma, uyku bozuklukları, huzursuz bacak sendromu, gövdeyi öne doğru eğme, yürüyüşten koşmaya geçiş eğilimi, depresyon, anksiyete, halüsinasyonlar, yorgunluk, iktidarsızlık, görme sorunları ve geç aşamalarda da demans eklemiştir. 20 yıldır Parkinson hastası olan Micheal Fox bu hastalığı "sürekli alıp götürün hediye (the gift that keeps on taking) " olarak adlandırmaktadır (Zeng ve diğerleri, 2018). Hastalık, patolojik olarak dopaminerjik (DAergic) nigrostriatal terminalin denervasyonu ve SNpc'de dopaminerjik nöronların dejenerasyonu ile karakterize edilir; yani bazal ganglionlar deney yapılar ile orta beyinde bulunun siyah cisim (substantia nigra) arasındaki bağlantılarda bozukluk sonucu dopaminerjik yetmezlik ve bunun motor korteks uyarımında azalmaya yol açmasıdır. Bununla birlikte, hastalık patojenezinin altında yatan kesin moleküler mekanizma yeterince bilinmemektedir (Pan ve diğerleri, 2018). Yaklaşık yüz yılı aşkın süredir SNpc pigmentindeki hücre kaybı, Parkinsonun varlığını tespit için ortaya konmuş en tutarlı patolojik lezyondur. Ancak bundan daha önce Konstantin Tretiakoff, Parkinson belirtisi için SNpc'deki nöron kayıplarının yanında Parkinsonlu hastaların beyin sapının diğer bir bölgesinde bulunan "Lewy cisimciği" adı verilen cisimciklerin de PH'nın varlığında

görüldüğüne dikkat çekmiştir (Lees ve diğerleri, 2008). 1908'den 1923'e kadar olan yıllar boyunca, Friederich Lewy, PH'nın patolojik anatomisini detaylandıran en önemli kişi olmuş ve 1912' de ilk olarak nöropatolojik düzeyde "shaking palsy" yi daha iyi anlayabileceğimiz "Lewy intranöral inklüzyon cisimleri" nin histopatolojik analizini yapmıştır (Holdorff ve diğerleri, 2013). Kısaca başlangıçta "shaking palsy" denilen "Parkinson" patolojik olarak, en fazla SNpc pigmentli nöronlarda kayıp ve buna eşlik eden tipik eozinofilik sitoplazmik inklüzyon cisimleri olan "Lewy intranöral inklüzyon cisimleri"nin varlığı ile karakterizedir.

Bir beyin nörotransmitteri olarak dopaminin ve bunun %80'inin (Bertler ve Rosengren, 1959) karar verme, eylem seçme ve ödüle dayalı öğrenmede etkin olarak görev alan bazal ganglia çekirdeklerinin temel giriş katmanı olan striatumda (Denizdurduran ve diğerleri, 2018) bulunduğu tespitini önemli bir ilerleme olmuştur.

Striatum, serebral korteks, amigdala ve hipokampusden oluşan limbik sistem ve dopamin salınımından sorumlu SNpc bölgelerinden doğrudan giriş almaktadır. Substantia nigra (SN) aksonları, nigrostriatal dopaminerjik yolu oluşturan dorsal striatuma medial ön beyin demeti yoluyla bağlanır (Caminiti ve diğerleri, 2007).

Yapılan deneysel çalışmalar göstermiştir ki striatum üzerinde gözlenen ritmik bozukluklar PH ile doğrudan ilişkilidir (Denizdurduran ve diğerleri, 2018) Bu ritmik bozuklukların striatum üzerindeki SN 'de ilerleyen dopamin nöron kaybına neden olduğu ve idiyopatik PH'nın ana özelliğini oluşturduğu birçok çalışmayla kanıtlanmıştır. Striatumun diğer bir kısmı olan mezolimbik sistemle Parkinson arasında ilişki olup olmadığı Caminiti ve arkadaşları tarafından merak edilmiş ve erken dönem Parkinsonda nigrostriatal ve mezolimbik sistem yapılarının bölgesel dopamin taşıyıcı aktivitesini ele alan kapsamlı bir çalışma yapmışlardır. Sonuçta PH'nın erken fazlarında, nigrostriatal yolakta çok şiddetli, ancak mezolimbik yolakta daha az ölçüde aksonal presinaptik dejenerasyon olduğunu bulmuşlardır. Nigrostriatal sistemdeki yoğun hasarın, dopamin ağ bağlantısında spesifik değişikliklere neden olduğunu gözlemlemişlerdir (Caminiti ve diğerleri, 2007). İlk olarak Arvid Carlsson 1959' da PH'nın motor semptomlarının oluşum sebebinin altında dopamin eksikliğinin olduğunu ileri sürmüştür. 1960'da Herbert Ehringer ve Oleh Hornykiewicz, striatumdaki dopamin eksikliğinin dördünün postensefalik parkinsonizm, ikisinin ise PH

ile ilişkili olduğunu belgelemişlerdir. Daha sonra 1963'te Hornykiewicz Parkinsonlu hastalarda SN'deki dopaminin azalmış olduğunu bulmuştur (Goederta ve diğerleri, 2017). Oluşan bu dopamin kaybının keşfi dopamini yerine koymak gibi bir fikir oluşturmıştır. Ancak dopamin gibi kateşolaminler kan beyin bariyerini (KBB) geçemezler. Dopamin prekürsörü 3, 4 dihidroksifenilalanin (DOPA) KBB'i geçer ve aromatik amino asit dekarboksilaz tarafından dekarboksillenerek dopamine dönüşür (Levodopa, 2018). PH'nın tanımından sonra hastalığın gelişiminde "ikinci çağ" olarak görülen oral levodopa (L-dopa) tedavisini uygulamak için 150 yıl geçmesi gerekmiştir. Arvid Carlsson, Oleh Hornykiewicz, George C. Cotzias ve Melvin D. Yahr, L-dopanın PH için devrim niteliğinde yeni bir tedavi olduğunu bulan ilk bilim insanlarıdır. Carlsson ilkin veziküler amin pompasında irreversibl blokaj ortaya çıkararak presinaptik nöronlardaki veziküllerde noradrenalin (NA), dopamin ve serotonin depolanmasını engelleyen "rezerpin" in sedatif etki mekanizmasını incelemiştir. 1957'de yaptığı, L-dopa hayvanlarda reserpine bağlı hareketsizliği azaltabildiğini gösterdiği kilit rol alan deneyden sonra Carlsson, rezerpinin beyin dopaminini tükettiğini, L-dopa'nın ise arttırdığını bulmuştur. Carlsson dopamin seviyelerini ölçmek için hassas bir floresan tekniği geliştirmiş ve laboratuvarında yaptığı çalışmalarında hayvan beynindeki dopamin dağılımının striatumda en yüksek olduğunu göstermiştir. Carlsson'ın, dopaminin beyinde bir nörotransmitter olarak görev yaptığı ve motor fonksiyonlarından sorumlu olduğu önerisi başta kuşkuyla karşılanırsa da Carlsson 2000 yılında Nobel Ödülü alır. Hornykiewicz norepinefrinin prekürsörü olarak kabul edilen dopaminin kan basıncı üzerindeki etkilerini çalıştığı sırada Carlsson'ın rezerpin ve dopaminin beyindeki bölgesel dağılımıyla ilgili yayımlanan makalesi Parkinsonlu hastalarda dopamin seviyelerini belirlemek için Hornykiewicz'e ilham kaynağı olur ve Parkinsonun şiddetini striatal dopamin azalması ile ilişkilendirir. Parkinsonlu hastalara L-dopa enjekte eder ve başarı elde edince bir monoamin oksidaz inhibitörünün kullanımıyla birleştirerek bu tedaviye devam eder. Ancak tedaviye cevap süresi sınırlı kalmış ve uygulamanın yapıldığı diğer çalışmalarda benzer başarı elde edilememiştir. Sonrasında Cotzias bu pigmenti hayvanlara değil, hastalara vermeye karar verir ve denediği üç ilaçtan biri d, l-dopadır. 1967 tarihli makalesinde de anlattığı gibi "*d-l-dopa*" semptomları tersine çevirmede oldukça başarılı olur, fakat aşırı yüksek dozlarda kullanması gerekmiş ve hematolojik yan etkilere neden olmuştur. Cotzias çalışmalarına L-dopa testini yaparak devam eder ve bu şekilde hematolojik problemler olmaksızın dozun yarısı ile aynı faydayı sağlar. Yahr başlangıçta L-

dopa konusunda şüphelidir. Bununla birlikte Cotzias'ın çalışmalarının çift körle doğrulanmaya ihtiyacı olduğunu düşünerek L-dopa ile yaptığı çalışmaları ilerletip aynı başarıyı elde etmiştir. Hem Cotzias hem de Yahr motor dalgalanmalar ve diskinezi gibi advers etkilerle karşılaşmışlardır. Ancak bradikinezi, rijidite ve titreme gibi etkilerin iyileşmesinin yanında bu olumsuz advers etkiler L-dopa'nın düzenleyici onayını engellememiştir (LeWitt, 2015). 1970'te L-dopa Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) Gıda ve İlaç Teşkilatı (Food and Drug Administration; FDA) tarafından PH'nın tedavisinde kullanılmak için onay alır. L-dopa neredeyse 50 yıldır PH tedavisi için en etkili farmakolojik ajan olmaya devam etmektedir. L-dopa'nın mucizevi etkileri nörolog yazar Oliver Sacks tarafından kendi hayatını anlattığı "Awakenings (Uyanış) " adlı kitabında sıra dışı vakalar rapor edilerek anlatılmıştır. Birinci Dünya Savaşından sonra Viyana'da bir ensefalit salgını başlamış ve tüm dünyaya yayılmıştır. Hayatta kalanların çoğunda bir dizi Parkinson benzeri post-ensefalitik sendrom gelişmiştir. Oliver Sacks çalıştığı hastanede bu tip semptomlara sahip uzun yıllardır hareket etmeden yatağa bağlı şekilde uyku modunda olan 80 hastayla karşılaşır. Uyguladığı L-dopa tedavisiyle hastalar yeniden hayata dönerler. Kitap ayrıca radyo oyunu, sahne oyununa ve sinema filmine uyarlanmıştır (Allan, 2007). Yine Harold Pinter'ın oyunu "A Kind of Alaska" da da L-dopaminin mucizevi etkilerinden bahsedilmektedir (A Kind of Alaska, 2018).

2.2. Parkinsonun Oluşumu

Hastalıkla ilgili tüm ilerlemelere rağmen PH'nın neden olduğu yıllardır gizemini sürdürmektedir. Bazı epidemiyolojik araştırmalar, Parkinson hastalarının çok az bölümünün kalıtsal formu oluşturduğunu, büyük çoğunluğunun ise sporadik (kalıtsal olmayan) formda olduğunu savunmuştur (Schapira, 2008). Hastalığın patolojik mekanizması büyük ölçüde bilinmese de genetik ve çevresel faktörlerin patojenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Hastalıktan kalıtsal faktörlerin %27 ve genetik faktörlerin %33 oranında sorumlu olduğu çalışmalar da vardır (Gan-Or ve diğerleri, 2015). 19. yüzyılda Charcot, kendi Parkinson hastalarının çoğunun ailesel geçmişi olduğu için PH'nın kalıtsal bir hastalık olabileceğini iddia etmiştir (Lev ve Melamed, 2001). 1983'de Kaliforniya'da ortaya çıkan parkinsonizmin sebebinin 1-metil-4-fenil-1, 2, 3, 6-tetrahidro piridin (MPTP) ile kontamine olmuş eroin olduğunun bulunması toksik ajanlar gibi çevresel faktörlerin de hastalığı indükleyebildiğini,

SNpc'deki dopaminerjik nöronları yok edebildiğini göstermiştir (Langston ve diğerleri, 1983). PH'nın oluşumunda çeşitli faktörler sunulsa da kabul edilmiş tek risk faktörü yaşlanmadır. Organik klorlu pestisitler ve ditiyokarbamatlar hastalığın oluşumuna zemin hazırlarken sigara kullanımının hastalığın oluşumunu azalttığı yönünde çeşitli çalışmalar vardır (Lev ve Melamed, 2001). Mitokondriyal kompleks inhibitörü olan rotenon ve oksidatif strese neden olan paraquat PH ile ilişkisi olduğu düşünülen iki ajandır (Richards ve diğerleri, 2016).

2.2.1. Parkinson hastalığını oluşturan nörodejenerasyonun patofizyolojik temelleri

PH'nın patofizyolojik temeline dair bilgiler, son yirmi yılda, genetik alanının da katkılarıyla büyük ölçüde genişlemiştir. Sporadik ve ailesel tipler olmak üzere iki tip PH vardır, görülme sıklıkları sırasıyla % 90 ve % 10' dur (Trimmer ve Bennett, 2009). Her iki durumda da, spesifik genetik mutasyonlar hastalığın ilerlemesinde rol oynar.

Oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyon gibi Parkinson hastalarının beyinlerinde çeşitli biyokimyasal anormallikler tanımlanmış, bu anormalliklerin PH'ya neden olduğu düşünülen spesifik gen mutasyonlarıyla ilişkilendirilmesi hastalığın ailesel ve sporadik formlarıyla oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyonun ilişkisini güçlendirmiştir. Parkinsonun mendelian formu diye de adlandırılan, ailesel kalıtılan formu ile ilişkili proteinler üzerine yapılmış geniş çaplı çok fazla çalışma vardır. Örneğin Lili ve arkadaşları PH'nın potansiyel risk lokuslarına uygulanmış ve yayımlanmış 800'den fazla genetik çalışmayı *PDGene* adı altında online kaynaktan toplamıştır (Lill ve diğerleri, 2012). Bu ve benzeri çalışmalar α -sinüklein, PTEN-kaynaklı putatif kinaz 1 (PINK1), DJ-1, lösin açısından zengin repeat kinaz 2 (LRRK2) gibi proteinlerin PH ile yaklaşık %10 ya da daha az oranda ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Çoğu popülasyondaki çalışmalar PH olan hastaların büyük çoğunluğunun, orijini genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimine dayalı mendelian olmayan formu taşıdıklarını, ailesel formun daha az etkili olduğunu ortaya koymuşlardır (Hardy ve diğerleri, 2009). Simon-Sanchez ve arkadaşları da Avrupa ırkı üzerine yaptıkları mendelian proteinlerin PH ile ilişkili olup olmadığına dair çalışmayı Japon popülasyonu üzerine yapılan diğer bir çalışmayla birlikte değerlendirmişler ve pozitif etki bulmuşlardır (Simón-Sánchez ve diğerleri, 2009). α -sinüklein, PTEN-kaynaklı putatif kinaz 1 (PINK1), DJ-1, lösin açısından zengin repeat kinaz 2 (LRRK2) ve parkin mitokondriyal proteinlerdir veya mitokondri ile ilişkilidirler. Bu proteinler oksidatif stres ve serbest radikal hasar yolları ile meydana gelmektedirler (Schapira, 2008). Yine

VPS35 ve GBA1 genleri de PH'da dopaminerjik nöronların kaybına sebep olan diğer potansiyel mekanizmalar (dopamin metabolizması, mitokondriyal disfonksiyon, endoplazmik retikulum stres, bozulmuş otofaji ve deregölasyon bağışıklık) ile ilişkilidirler. PH'nın etiyoöljisi ve patogeneziine dair bu bakış açıları hastalığın patojenezinde müdahale sağılayacak ya da ilerlemesini yavaşlatabilecek ilaçların üretilebileceğı ümidini de doğurmaktadır (Schapira, 2008).

Parkinsonun genetik temelleri

Aşağıda belirtilen gen mutasyonları PH'nın erken başlangıç evresi vakalarının %50'sinden fazlasını ve PH'nın geç başlangıç formlarının yaklaşık %2-3'ünü oluşturmaktadır. Ailesel PH vakalarının başlangıcı ile bağılantılı gen mutasyonlarının bulguları bu mutasyonların PH'nın ilerlemesindeki kritik rollerini ve kalıtsal PH'nın molekölur patojenesinin anlaşılmasını kolaylaştırmıştır.

α -sinuklein

α -sinüklein Lewy cisimciklerinin ana bileşenidir ve PH'da merkezi bir rolü vardır. SNCA / PARK1 geni tarafından kodlanan α -sinüklein (A53T) 'deki missense mutasyonu ilk olarak ailesel PH'ya neden olan mutasyon olarak tanımlanmıştır. Yakın zamanda A30P, E46K, H50Q, G51D ve A53E gibi α -sinükleinin N terminalinde oluşan missense nokta mutasyonları da tanımlanmıştır. SNCA bağılantılı oluşan PH genellikle erken başlangıç aşamasındadır ve hızla ilerler. α -sinüklein Lewy cisimciğinin ana bileşenidir ve çoğunlukla PH'nın patolojik progresyonunu şiddetlendiren α -sinükleinin Ser129'unda fosforile edilmektedir (Sato ve diğlerleri). α -sinükleinin oligomer formları fibril formlarından daha toksiktir ve SNpc'de daha fazla dopaminerjik nöron kaybına sebep olmaktadır (Ingelsson, 2016). α -sinüklein mutasyonları dopaminerjik nöronlar için toksiktir; çünkü bir dizi hücre içi sinyal programını değıştirirler. α -sinüklein A53T mutasyonu, erken basamakta transgenik farelerin beyinlerindeki otofajiyi baskılayabilir ve sikleinopatiye sebep olabilir (Pupyshev ve diğlerleri, 2018). PH hastalığında α -sinükleininin hem protein hem de mRNA'larında artış görölümüş (Farrer ve diğlerleri, 2004), bu bilgi α -sinüklein ekspresyonunun azaltılması durumunda PH için potansiyel bir terapötik etki sağılanabilir düşüncesini doğurmuştur (Lewis ve diğlerleri, 2008). Beyindeki hücre öölmleri ve α -sinükleinin akümüölasyonunun PH için bir gösterge olduğunu savunan Alarcon ve arkadaşları α -sinukleini azaltmak için, intranazal uygulamadan sonra serotonin (5-HT) veya norepinefrin (NE) nöronlarını seçici olarak hedef alan konjugatlanmış

küçük enterferans RNA (siRNA) dizileri geliştirmişlerdir (Alarcón ve diğerleri, 2018). Rotenonun etkisiyle sıçanlarda PH hastalığını tetikleyen Zharikov ve arkadaşları siRNA kullanarak α -sinükleini engellemişler, SNpc'deki dopaminerjik nöron dejenerasyonunu ve progresif motor eksikliğini de yavaşlatmışlardır (Zharikov ve diğerleri, 2015). Alarcon ve arkadaşları inhibitör oligonükleotitleri, siRNA ve antisens oligonükleotitleri monoamin geri alım inhibitörü indatralin ile kombine edip nazal vererek farelerin beyin sapında α -sinüklein ekspresyonunu azaltmışlar ve SNpc'deki endojen α -sinüklein mRNA'larını ve protein seviyelerini düşürmüşlerdir (Alarcón ve diğerleri, 2018).

Çizelge 2.1. PH Bağlantılı α -sinükleinin mutasyonları ve patojenler (Zeng ve diğerleri, 2018)

Mutasyon	Patojenler	Hücre Tipi	Kaynaklar
A53T	Otofaji inhibisyonu	Fare	Pupyshev et.al. 2017,
	Tirozin hidroksilazın inhibisyonunun azalması, Bcl2, DJ1	Fare	Zeng et.al. 2017
	İndüklenmiş mitokondriyal disfonksiyon ve aktive olmuş apoptozis	SHSY5Y	Lee et.al. 2017
	İndüklenmiş mitokondriyal fragmentasyon, mitokondriyal disfonksiyon ve aktive olmuş apoptozis	Sıçanlar	Ju et.al., 2017
	Otofaji inhibisyonu	PC12	Wang K.et.al.,2016
	Artmış protozom aktivitesi, artmış ROT, mitokondriyal stokrom C salınımı, endoplazmik retikulum stresi, artmış caspase9 ve caspase12 aktivitesi	PC12	Smith et.al. 2005
	Artmış ROT'lar, mitokondriyal depolarizasyon stokrom C salınımı ve apoptozis	PC12	Liu et.al. 2011
A30P	Otofaji inhibisyonu	PC12	Wang K.et.al.,2016
	İndüklenmiş TH+ hücrelerinin kaybı	Sıçanlar	Brito Armas et.al.,2013
	Aktive olmuş mikrogliya	Birincil orta beyin hücreleri	Zhang et.al.. 2007
	İndüklenmiş distrofik akson türü Lewy ve dopamin hücrelerinin kaybı	Sıçanlar	Klein et.al., 2002
E46K	Makrootofaji inhibisyonu	PC12	Yan et.al. 2004
	Striatal nörotransmitter metabolizması değişimi, indüklenmiş oksidatif stres ve rptenona artmış hassasiyet	Sıçanlar	Cannon et.al. 2013
	Protozom inhibisyonu ve indüklenmiş mitokondriyal depolarizasyon	PC12	Jang et.al. 2010
	Artmış Ser129 fosforilasyonu	HEK293T, HeLa hücreleri ve fare	Mbefo et.al. 2015
H50Q	Artmış α sinüklein çözünürlüğü Bakır bağlama ve α sinüklein agregasyonunda artış		Porcari et.al. 2015 Rutherford et.al. 2015 Mason et.al. 2016 VilarPique et.al. 2017

LRRK2

Lösin açısından zengin repeat kinaz 2 (LRRK2) hem Rab GTP az hem de kinaz enzim aktiviteleri içeren multi etkinliğe sahip bir proteindir. LRRK2'nin mutasyonu "klasik" geç başlangıçlı PH ve hereditör PH'nın %4'ünü oluşturur (Ferreira ve Massano, 2017). Howlett ve arkadaşları LRRK2 G2019S mutasyonunun sıçan orta beyininden kültürlenmiş primer nöronlarda mitokondriyal DNA hasarı oluşturduğunu ve mitokondriyal DNA'nın restorasyonunu inhibe ettiğini tespit etmişlerdir (Howlett ve diğerleri, 2017)////(Zeng ve diğerleri, 2018). PH bağlantılı LRRK2 mutasyonları ve patojenler Çizelge 2.2'de özetlenmiştir:

Çizelge 2.2. PH Bağlantılı LRRK2 mutasyonları ve patojenler (Zeng ve diğerleri, 2018)

Mutasyon	Patojenler	Hücre Tipi	Kaynaklar
G2019S	Artmış asinüklein akümüasyonu	Birincil fare nöronları	VolpicelliDaley et al., 2016
	İndüklenmiş ASK1 bağlantılı apoptozis	PH nöronal alarm hücreleri	Yoon et al., 2017
	Spesifik miyosit arttırıcı faktör 2D aktivitesinin inhibisyonu	Fare	Han et al., 2017
	İndüklenmiş mitokondriyal DNA hasarı	Sıçan orta beyindeki birincil nöronlar	Howlett et al., 2017
	İndüklenmiş mitokondriyal kalsiyum deregülasyonu	Birincil fare kortikal nöronları	Verma et al., 2017
	Artmış mitokondriyal DLP1,artmış mitokondriyal fragmentasyon, mitokondriyal disfonksiyon	SHSY5Y	Wang et.al.,2012
	Mitokondriyal morfoloji değişimi, pksijenli solunum kompleksi IV aktivitesinin azalması	Sinekler	Mortiboys et al., 2015
	İndüklenmiş mitokondriyal hastalık ve otofaji deregülasyonu	Sıçan orta beyindeki birincil nöronlar	Su et al., 2015
	İndüklenmiş inflamatuvar cevaplar ve apoptozis	LRRK2 G2019S hasta fibroblastları	Kim et al., 2012
	Mitokondriyal yolaktaki indüklenmiş disfonksiyon, canlı hücre sinyalleri, kanserizasyon, endositozis sinyallerive demir metabolizması, immün sistem ve endositozis deregülasyonu	Mürin mikrogliHastaların periferel kan mononükleer hücreleri	Mutez et al., 2014
R1441C	İndüklenmiş mitokondriyal kalsiyum deregülasyonu	Birincil fare kortikal nöronları	Verma et al., 2017
	Artmış mitokondriyal DLP1,artmış mitokondriyal fragmentasyon, mitokondriyal disfonksiyon	SHSY5Y	Wang et.al.,2012
	İndüklenmiş mitokondriyal ve lizozomal transport defektleri	SHSY5Y	Thomas et. al.2016
I2020T ve G2385R	Artmış LRRK2 GTPaz aktivitesi	HEK 293T	Ho et.al.,2016

PINK1 ve Parkin

Bir mitokondri protein kinazı olan PTEN indükleyici putatif kinaz 1 (PINK1), PH'nın patojenezi ile bağlantılı kritik bir proteindir. PINK1 eksikliği PH'nın varyantı olan otozomal resesif PARK6'ya neden olur. Erken başlangıçlı PH'nın Avrupa popülasyonunda yaklaşık %1-3'ü, Japon ailelerinde %8,9'u, etnik Çinliler, Malezyalılar ve Hintlilerde %2,5'inin PINK1 mutasyonundan kaynaklandığı bildirilmiştir (Bekris ve diğerleri, 2010). PINK1 kaybı nöronal hassasiyetin artması kadar mitokondriyal disfonksiyonla da ilişkilidir (Huang ve diğerleri, 2017).

PARK2 tarafından kodlanan Parkin'in, otofosforile edilmiş PINK1 tarafından aktive edilerek bir ubiquitin E3 ligaz olarak çalıştığı düşünülür (Zhuang ve diğerleri, 2016). Parkin genindeki mutasyonlar birçok ülkede erken başlangıçlı PH'nın yaygın nedeni ve PH vakalarının %10-25'ini oluşturur. PINK1 disfonksiyonel mitokondrilerin zarında birikir, Parkin'in E3 ubiquitin ligaz aktivitesini aktive eder ve mitofajik degradasyonu artırmak için sitoplazmadan hasar görmüş mitokondriye bunları toplar (Sanyal ve diğerleri, 2015). ROT de bu bahsedilen PINK1 / Parkin yolağıyla mitokondride Parkin toplanmasını artırarak mitofajik degradasyon oluşturur (Xiao ve diğerleri, 2017). PH bağlantılı PINK1 ve Parkin mutasyonları ve patojenler Çizelge 2.3.'de özetlenmiştir:

Çizelge 2.3. PH bağlantılı PINK1 ve Parkin mutasyonları ve patojenler (Zeng ve diğerleri, 2018)

Genler	Mutasyon	Patojenler	Hücre Tipi	Kaynaklar
PINK1	G411S	PINK1 kinaz aktivitesinin azalması, bozulmuş mitokondriyal kalite kontrolü	PINK1 G411S taşıyıcılarının nöronları	Puschmann et al., 2017
	I1368N	Azalmış PINK1 stabilite ve kinaz aktivitesi	Fibroblastlar	Ando et al., 2017
	Q456X	Azalmış PINK1 protein seviyeleri ve kinaz aktivitesi	PINK1 G411S taşıyıcılarının nöronları	Puschmann et al., 2017
	A168P, H271Q, L347P, G309D	Depolarize olmuş mitokondriye parkin alımının inhibisyonu	MEF	Narendra et al., 2010
Parkin	R42P, R46P, K211N, C212Y, C253Y, C289G, C441R	Depolarize olmuş mitokondriye parkin alımındaki azalmanın sebebi, mitofaji inhibisyonu	Hela	Narendra et al., 2010
	R275W	Mitofaji inhibisyonu	Hela	Narendra et al., 2010

DJ-1

DJ-1'in fonksiyonu büyük ölçüde bilinmemektedir, ancak maya DJ-1 homologu üzerindeki genetik çalışmalardan elde edilen kanıtlar ve mürin ve insan hücre dizileri üzerindeki biyokimyasal çalışmalar, DJ-1'in oksidatif strese karşı bir antioksidan ve / veya bir moleküler yardımcı olarak rol aldığını düşündürmektedir. PARK7 geni tarafından kodlanan DJ-1 mutasyonları resesif PH'nın erken dönem başlangıcı ile ilişkilidir. DJ-1 mutasyonları ilk olarak 20-40 yaşları arasında olan Avrupa ailelerinde tanımlanmıştır (Bonifati ve diğerleri, 2003). PH bağlantılı DJ-1 mutasyonları ve patojenler Çizelge 2.4.'de özetlenmiştir:

Çizelge 2.4. PH bağlantılı DJ-1 mutasyonları ve patojenler (Zeng ve diğerleri, 2018)

Mutasyon	Patojenler	Hücre Tipi	Kaynaklar
L166P	Mitokondriyal BCIX _L 'den Bax çözülümü	HEK293 ve H1299	Ren et al., 2012
	Subselüler dağılımın ve şaperonun değişimi, dimerleşme aktivitesinin azalması	SHSY5Y ve HEK293	Deeg et al., 2010
	Antioksidan aktivitenin bozulması	SHSY5Y	Im et.al., 2012
M26I	Antioksidan aktivitenin bozulması	SHSY5Y	Im et.al., 2012
L10P ve P159	Protein stabilitesinin azalması	CHO	Ramsey ve Giasson, 2010
D149A	Korunmanın azalması	SHSY5Y, HEK293 ve MEF	Giarne et.al.
DJ1 /	Oksidatif strese hassasiyetin artması	Embriyonik stem hücreleri	Martinat et.al., 2004
L172Q	Azalmış protein stabilitesi	HEK 293	Talpa et.al., 2016

VPS35

Vacuolar protein sorting 35 (VPS35) geninin mutasyonları ilk olarak geç yaşlarda başlayan PH'lı Avusturyalı bir ailede keşfedilmiştir. VPS35 mutasyonu ailesel PH'nın %1'ini oluşturur. VPS35 D620N mutasyonu Asya, Avrupa ve Amerikalı PH'lı ailelerde patojeniktir ve bu mutasyon enzimatik aktivitede azalmaya ve mitokondriyal disfonksiyona ve böylece dopaminerjik nöron kaybına neden olur (Tang ve diğerleri, 2015). PH bağlantılı VPS35 mutasyonları ve patojenler Çizelge 2.5.'de özetlenmiştir:

Çizelge 2.5. PH bağlantılı VPS35 mutasyonları ve patojenler (Zeng ve diğerleri, 2018)

Mutasyon	Patojenler	Hücre Tipi	Kaynaklar
D620N	Enzimatik aktivitenin azalması ve Kompleks I ve II'deki solunum defektleri	PH fibroblastları	Zhou et.al., 2017
	Mitochondriyal disfonksiyona sebep olma	Fare SNC nöronları ve D620N'li PH'lıların birincil fibroblastları	Wang W.et.al., 2016
	AIMP2'Li VPS35'in interaksiyonundaki bozulma, hücre ölümündeki artış	SHSY5Y	Yun et.al., 2012
VPS35/	Lamp2a'nın golgi alımının bozulması ve asinükleinin otofajik degradasyonunun inhibisyonu	Orta beyin birincil dopaminerjik nöronlar	Tang et al., 2015
	Dopaminerjik nöronların ve asinükleinin akümüasyonunun kaybı	Fare ve birincil dopaminerjik nöronlar	Tang et al., 2015
R524W	Retromer ilişkili endozomal bozulma ve asinüklein agregasyonunun indüklenmesi	SYSY5Y	Follett et al., 2016
P316S	Dopaminerjik nöronların kaybı	Drosophila	Follett et al., 2016

GBA1

Glukoserebrosidaz 1 (GBA1) 'i kodlayan glukoserebrosidaz gen mutasyonları Gaucher hastalığından (GH) sorumludurlar ve aynı zamanda PH için en yaygın genetik risk faktörüdürler. Yaşla birlikte beyin, α -sinüklein patolojisiyle de yakından alakalı olan glukozilseramid birikimi gösterir ve glukozilseramidin α -sinüklein patolojik agregasyonunu desteklediğini, GH hastaları ve taşıyıcılarda PH riskini artırdığını göstermektedir (Taguchi ve diğerleri, 2017). PH bağlantılı GBA1 mutasyonları ve patojenler Çizelge 2.6.'da özetlenmiştir:

Çizelge 2.6. PH bağlantılı GBA1 mutasyonları ve patojenler (Zeng ve diğerleri, 2018)

Mutasyon	Patojenler	Hücre Tipi	Kaynaklar
GBA1/	Makrofaji inhibisyonu ve şaperon kaynaklı otofaji	MEF	Magalhaes et al., 2016
	GSL birikiminde ortaya çıkan, α -sinüklein tetramerleri ve ilgili multimerlerin azalması, α -sinüklein monomerlerinin artırılması	SHSY5Y	Kim et al., 2018
N370S (heterozigotlar)	α -sinüklein tetramerlerinin ve ilgili multimerlerin azalması	PH iPSC'den türetilmiş insan dopaminerjik nöronlar	Kim et al., 2018
	Endoplazmik retikulum stres aktivasyonuna sebep olma, katlanmamış protein tepkisi ve Golgi aparatus fragmentasyonu	PH'lıların cilt biyopsilerindeki fibroblastlar	GarciaSanz et al., 2017
	Azalmış lizozomal kalsiyum depo içerikleri	PD hasta fibroblastları	Kilpatrick et al., 2016
L444P (heterozigotlar)	α -sinüklein tetramerleri ve ilgili multimerlerin azaltılması	Heterozigoz L444P GBA1 mutasyonu taşıyan Murin nöronları	Kim et al., 2018
	Nigral dopaminerjik nöronların kaybını tetikleyen α -sinüklein agregasyonu	Fare	MigdalskaRichard s et al., 2017

Parkinsondaki nöronal hücre ölümlerinin metabolizması

Proksimat nedenleri anlamada en bariz bulgu, hastalığın klasik motor semptomlarını açıklayan dopaminerjik hücre ölümleridir. Ölümler esas olarak nörotransmitter dopaminin sentezlenip pompalandığı hareket düzenleyici beyin bölgesi SNpc'de meydana gelir. SNpc'deki dopaminerjik nöronların %70'i aşkın ölümünde bile semptomlar nadiren farkedilir. Çünkü SNpc'nin hemen aşağısındaki striatum bir dereceye kadar bu durumu telafi edebilir. Bununla birlikte, striatumdaki masif nöronlar da sonunda ölmeye başlar. Günümüzde dopamin metabolizması, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon,

2.3. Yaşlılık ve Parkinson

Yaşlılık, zamana bağlı olarak organizmanın intrinsik morbidite ve mortalitesindeki artıştır. Saçların beyazlaması, cilt kırışıklığı, katarakt, kanser, diyabet, immunolojik fonksiyon bozukluğu, osteoporoz ve vücuttaki genel küçülme insanda yaşlanmaya eşlik eden belirtilerdir. Yaşa bağlı değişiklikler dokuda, organda, hücrede ve makromoleküler düzeyde meydana gelmektedir ve bu hasarların onarımı yavaşlar, immün sistem tarafından tolere edilememektedir (Hipkiss, 2007; Skinner, 2005).

Erken dönem ve hızlanmış yaşlanmaya sebep olan Werner, Bloom Sendromu, Hutchinson Gilford, Rothmund Thomson hastalığı gibi genetik hastalıkların nadiren görülmesi veya açlık, savaş gibi istisnai durumlar dışında bir organizmanın yaşam süresi genetik olarak bellidir. Pasifik somon balığının çiftleşmeden sonra hormonal olarak hızlıca yaşlanmaya uğraması gibi ender görülen örnekler dışında yaşlanma insanların yaşam süresini ortalama tahmin edebileceği universal bir gerçektir. Yaşlanma ile meydana gelen değişiklikler hastalıkların gelişmesini ve sonucunu etkilemektedir (Hipkiss, 2007; Radak ve diğerleri, 2011). 20. yüzyılda dünyada ve ülkemizde bebek ölümlerinin azalması, tıptaki yeni gelişmelerle bulunan tedavi yöntemleri, hijyen ve temizliğe verilen önemle enfeksiyon hastalıklarının kontrol altına alınması, beslenme ve sağlık hizmetlerinin gelişmesi gibi birçok faktör beklenen yaşam süresini arttırmıştır. Bu ise yaşlılıkla ortaya çıkan hastalıkların gözlenmesine ve buna bağlı sağlık harcamalarının artmasıyla ülke ekonomisine yeni yükler getirmiştir.

2.3.1. Yaşlanmaya neden olan mekanizmalarla ilgili olası teoriler

Oksidatif stres ve Reaktif Oksijen Türleri

Canlılarda aerobik mekanizma enerji üretimi için son derece önemlidir. Bu mekanizma sırasındaki son elektron alıcı oksijendir. Oksijenin toksik etki göstermesi süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojenperoksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($HO^\cdot$), singlet oksijen (O_2), Ozon ve hipokloröz anyonu ($HOCL$) gibi ROT nedeniyedir (Gan-Or ve diğerleri, 2001; Büeler H, 2009). Aslında ROT'lar belli bir seviyeye kadar fizyolojik fonksiyonları stimüle ettiği için organizma bakımından önemlidir. Ancak kritik seviyeye ulaştıktan sonra ROT'lar hücre fonksiyonları

için tehlikeli forma gelirler. Bu nedenle ROT'larının biyolojik sisteme etkisini hormetik eğri ile tanımlamak mümkündür. ROT'ların hücrenin tolere edebileceği seviyeden fazla olması, DNA, RNA ve proteinler gibi makromoleküllerde oksidatif değişikliğe sebep olur ki buna "oksidatif stres" denilmektedir (Radak ve diğerleri, 2011).

Telomer kısalması

Telomerlerin uzunluğu üzerine yaşlanmanın ve ölümün çaresi olabileceği şeklinde birçok tartışma yapılmış olsa da kimi araştırmacıya göre fareler üzerinde yapılan tartışmaları sonlandırmıştır. Farelerin telomerleri insanlardan uzun olmasına rağmen bilindiği gibi insan ömrü farelerden 30 kat daha fazladır (Hippkiss, 2007).

Parkinsonun oluşumunda çeşitli mekanizmalar sunulmuşsa da yaşlılık tüm nörodejeneratif hastalıklarda olduğu gibi PH'nın oluşumunda da kanıtlanmış tek faktördür. Santral sinir sistemindeki (SSS) lipitler, proteinler ve DNA, oksidatif strese karşı yüksek bir duyarlılığa sahiptir. ROT kaynaklı hasar, özellikle yaşamın son çeyreğinde, yaşlanma ile artar. Yaşlanmanın en çok etkilediği organlardan birisi oksidatif strese duyarlılığından dolayı beyindir. Çünkü ROT'lar beyindeki nöronal prekürsör hücrelerinde diğer hücrelerden dört kat daha fazla bulunurlar. Beyin, KBB tarafından iyi korunmasına rağmen bu tür ajanlara karşı korunma sağlayamaz. Bu nedenle oksidatif stres ve Alzheimer, Parkinson, inme, Hutchinson hastalığı, Nieman Pick hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıklar ile oksidatif stres arasında yakın bir ilişki vardır (Radak ve diğerleri, 2011). Yaklaşık 200 yıldır oluşum gizemini koruyan PH için halen ortak inanç açık şekilde yaşlanma sürecinin hastalığı etkilediğidir; çoğu popülasyonda, 40 yaşın altındaki insanlarda nispeten az sayıda tanı yapılmaktadır (Schnabel, 2010).

2.4. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Parkinson

Mitokondri, hemen hemen tüm ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında bulunan, çift membranla sınırlı, elektrokimyasal gradient içinde organik substratlardan enerji dönüşümünü sağlayan önemli bir organeldir. Mitokondri, hücrede metabolizma, redoks sinyalizasyonu, kalsiyum dengesi, hücre çoğalması, gelişme ve hücre ölümü gibi birçok kritik hücresel fonksiyonlara sahiptir. Ancak, besinlerin oksidasyonu yoluyla üretilen iyon

gradienti ROT oluşumuna sebep olur, bunlar da oksidatif stres oluşturarak hücrelerde hasara ve çeşitli hastalıkların oluşumuna neden olur (Stockum ve diğerleri, 2016). Mitokondriyal ROT üretim yolu mitokondriyal solunum zincir kompleksi tarafından ayarlanır. Mitokondriyal elektron transport sistemi (ETS) 5 adet çoklu kompleks ünitelerden oluşur: NADH, koenzim Q (Kompleks 1), süksinat dehidrogenaz (Kompleks 2), koenzim Q-stokrom C redüktaz (Kompleks 3), stokrom C oksidaz (Kompleks 4) ve ATP sentaz (Kompleks 5). Kompleks 1 oksijenden ROT üretiminden sorumludur. Önceden yapılmış çalışmalar Parkinsonlu hastalarda azalmış Kompleks 1 aktivitesinin aşırı ROT oluşumuna neden olduğunu ve apoptozu tetiklediğini göstermiştir (Kim ve diğerleri, 2015).

Nörotoksik özellikleri bilinen bir pestisit olan rotenon ve meperidin analogu olan MPTP (1-metil-4-fenil-1, 2, 3, 6-tetrahidro piridin) 'nin mitokondrideki ETS'de solunum zincir proteinlerinden olan ve oksidatif fosforilasyonda anahtar rolü alan Kompleks 1'i inhibe ederek parkinsonizme neden olduğu bulunmuştur. Dahası ailesel öykünün olduğu bazı PH vakalarında hastalığın oluşumu PINK-1, DJ-1, Parkin ve LRRK2 mutasyonları gibi proteinlerdeki mutasyonlarla ilişkilendirilmiştir (Luo ve diğerleri, 2015; Calabrese ve diğerleri, 2005). Parkinsonlu hastaların SN'deki Kompleks 1 eksikliği mitokondriyal fonksiyon bozukluğuyla PH arasında doğrudan bir ilişki vardır (Kim ve diğerleri, 2015).

Mitokondriyal DNA'daki (mtDNA) somatik mutasyonların birikiminin yaşlanma ve dejeneratif hastalıkların orijini olduğu varsayılmaktadır. mtDNA ROT'ların bulunduğu mitokondriyal zarın yakınında olduğu için, nükleer DNA (nDNA) 'ya göre oksidatif strese çok daha fazla hassastır. Ayrıca nükleer DNA gibi histonlar tarafından korunmaz. Mitokondri mtDNA'daki oksidatif hasarı onarabilir ve bu onarımda BER yoluyla dominant bir role sahiptir. mtDNA'nın hasarı nDNA' dan daha önemlidir. Çünkü mtDNA eksprese olmuş tüm genleri kodlarken nDNA transkripsiyona uğramamış dizileri kodlar (Babusikova ve diğerleri, 2013).

Çeşitli çalışmalar mitokondrideki mitofajiden sorumlu Parkin ve PINK-1 proteinlerinin mitokondriyal dinamik ve fonksiyonların düzenlenmesinde önemli role sahip olduğunu göstermiştir. Bu proteinlerdeki mutasyonlar organizmayı oksidatif strese ve sporadik Parkinson oluşumuna daha duyarlı hale getirmektedir (Büeler, 2009). Anormal

mitokondriyal fonksiyonlar PH'da major sitopatolojilerden biridir ve PH'nın önemli patojenik mekanizması olarak kabul edilir. Hem insan hem de deney hayvanlarında yapılan çalışmalar mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun erken dönem oluşan hem ailesel hem de sporadik PH'da önemli bir etken olduğunu göstermiştir (Kim ve diğerleri, 2015; Büeler, 2009).

2.4.1. Mitofaji

Mitokondrinin lizozomda parçalanmasıdır. Nöron hücreleri gibi postmitotik hücrelerdeki hasarlı mitokondrilerin yıkımı açısından önemlidir. Hasarlı mitokondrinin mitofajisi sırasında PINK-1 ve Parkin gibi farklı proteinler rol almaktadır. Çeşitli literatür verilerine göre mitokondride işlevsel olan PINK-1 veya parkin proteinlerinin işlev kaybı erken PH'nın oluşumuna neden olmaktadır. Ubikülin-proteazom yıkım yolu ve otofaji bozukluğu yanısıra mitofaji bozukluğu PH gibi nörodejeneratif hastalıkların oluşumunun altında yatan sebeplerdendir (Richards ve diğerleri, 2016).

Bu bağlamda fonksiyonu bozulmuş mitokondrilerin oksidatif hasar ve nörodejeneratif hastalık oluşumuna engel olunması için mitofaji gibi hücresel temelli tedavi tekniklerine gidilebilir.

2.4.2. Parkinson Hastalığı ve Parkinsonizm

Sıklıkla karıştırılmasına rağmen PH ile Parkinsonizm aslında farklı anlamlara gelmektedir. PH α -sinüklein içeren Lewy cisimcikleri ve nigral dopaminerjik nöron kaybı (Otopside saptanan) sonucu bradikinezi, istirahat tremoru, yürüme güçlüğü, postural istikrarsızlık gibi semptomlar ile karakterize klinikopatolojik varlığı refere etmektedir. Buna karşılık Parkinsonizm PH ile benzer bir dizi semptomu tanımlasa ve dopamin replasman tedavisi ile iyileşme gösterse de α -sinükleinde sorun olması gerekli değildir ve lezyonlar SN ile sınırlıdır. Bu ayrım PINK1, Parkin, DJ-1 gibi bazı genlerdeki mutasyonların PH'dan çok Parkinsonizm yaptığı konusunda tartışma oluşturmuştur. Ancak bu genlerdeki mutasyonların ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun hem sporadik (ailede daha önce olmayan, ilk defa gözlenen, mutasyondan kaynaklandığı ispatlanan) PH hem de ailesel Parkinsonizmin

patolojisinin altında yatan anahtar mekanizmalardan olduklarına dair kanıtlar giderek artmaktadır (Büeler, 2009).

2.5. Endoplazmik Retikulum Stresi ve Parkinson

PH yanlış protein katlanması olarak da sınıflandırılan bir hastalıktır. Endoplazmik retikulum stresi Parkinsonlu hastaların beyinlerinde gözlemlenir ve dopamin nöronlarının ölümüne sebep olur (Selvaraj ve diğerleri, 2012). Artan deneysel kanıtlar ayrıca yanlış katlanmış ya da katlanmamış proteinlerin endoplazmik retikulum stresine yol açtığını ve nöronal ölüm veya apoptozise katkıda bulunduğunu göstermektedir. Yani katlanmamış protein tepkisi (KPT) endoplazmik retikulum stresinde kilit roledir (Valdés ve diğerleri, 2014). SSS'de KPT'nin düzenlenmesi üç transmembran proteininin aktivasyonu tarafından başlatılır: (1) ER kinaz benzeri PRKR (PERK), (2) inositol gerektiren enzim 1a (IRE1a) ve (3) aktive olmuş transkripsiyon faktörü 6 (ATF6). Sinir sistemindeki KPT'nin anahtar düzenleyicisi olan X-Box bağlayıcı protein 1 (XBP1) 'in gelişimi PH'yı tetikleyen nörotoksinlere karşı dopaminerjik nöronları korur. IRE1a / XBP1 en korunmuş KPT sinyalizasyon yoludur ve KPT için bir anahtar düzenleyicidir. Bu hayatta kalma etkisi, SNpc'nin dopaminerjik nöronlarındaki ER stres yanıtının indüklenmesiyle sonuçlanan, ancak diğer beyin bölgelerinde olmayan bir önkoşullanma ile ilişkilendirilmiştir. Buna karşılık, yetişkin hayvanlarda sessiz kalmış XBP, kronik ER stresini ve dopaminerjik nöron dejenerasyonunu tetiklemiştir. Tüm bu bulgulardan esinlenerek yapılan aktif XBP1 formunun kullanıldığı gen terapisinin, 6-hidroksidopamin enjekte edilen hayvanlarda nöro-koruma ve azaltılmış striatal denervasyon sağladığı gözlemlenmiştir (Selvaraj ve diğerleri; Valdés ve diğerleri, 2014). Stresli koşullar altında PERK, IRE1a ve ATF6 transmembran proteinleri glukoz düzenleyici protein 78 (GRP78) 'e ayrışır ve endoplazmik retikulumun yükünü hafifletmek için transkripsiyon ve translasyonu inhibe etme, endoplazmik retikuluma giren protein miktarını azaltma, endoplazmik retikulumun katlanma kapasitesini artırmak için moleküler şaperon seviyesini artırma gibi hücre içi sinyalleri aktive eder (Walter ve Ron, 2011). ER'nin strese girdiğinin bir diğer göstergesi Parkinsonlu hastalarda PINK1 ve Parkin mutant genlerindeki artış ve PERK'in genetik veya farmakolojik koruyuculuğundaki inhibisyonudur (Celardo ve diğerleri, 2016).

2.6. Bozulmuş Otofaji ve Parkinson

Otofaji yanlış katlanmış proteinlerin birikimlerinin temizlenmesinde ve hasarlı organellerin degradasyonunda önemli bir rol oynar (Hu ve diğerleri, 2017). Alzheimer, prion hastalıkları, amiotrofik lateral skleroz (ALS) ve PH gibi nörodejeneratif hastalıkların ortak temel özelliği, endoplazmik retikulumün (ER) stresine ve uyarılmasının başlatılmasına yol açan yanlış katlanmış proteinlerin birikmesi kaynaklıdır. Otofajinin, birikmiş yanlış katlanmış proteinleri yok ederek ER stresini hafiflettiğine dair kanıtlar vardır (Cai ve diğerleri, 2016). Endoplazmik retikulum stresine benzeyen başlangıç otofajisinin tamamen sito-koruyucu bir mekanizma olduğu kabul edilmektedir. Otofaji ile ilişkili gen 5 (OTG5) 'in eksikliğinin, MPTP ile tetiklenerek PH oluşturulmuş zebra balığı modelindeki dopaminerjik nöronların apoptozisini inhibe ettiği görülmüştür. PH'lı zebra balığının yüzme davranışı kullanılarak genlerin ve proteinlerin ekspresyonuna bakılmış ve bu modelde OTG5 ekspresyon seviyesinin azaldığı ve otofaji akışının bloke olduğu görülmüştür. OTG5 down-regülasyonu; β -sinüklein (insanda α -sinüklein, zebra balığında β ve γ sinüklein bulunur), mutant Parkin ve PINK1 gibi PH ile ilişkili proteinlerin artışına, MPTP ile indüklenen PH'dakine benzer patolojik lokomotor davranışların artışına, tirozin hidroksilaz (TH) veya dopamin transporter (DAT) ile ilişkili dopaminerjik nöron kaybının artmasına yol açmıştır (Hu ve diğerleri, 2017). α -sinükleinin yanlış katlanması ve toplanması PH'nın patogeneğinde önemli bir rol oynar. Hem SH-SY5Y hücrelerinde hem de PH hayvan modellerinde DJ-1'in şaperon aracılı otofajiyle α -sinükleinin agregasyonunu ve akümüleyonunu azalttığı görülmüştür. Bu nedenle şaperon aracılı otofajinin bozulması PH'nın patojeneziyle yakından ilişkilidir (Xu ve diğerleri, 2017). Otofaji mekanizması PH'nın patolojisinde genellikle kusurlu veya inhibe durumdadır. Yani otofaji bozukluğu PH'nın gelişmesinde nedensel bir mekanizma olarak kabul edilir (Cai ve diğerleri, 2016).

2.7. Lipit Peroksidasyonu ve Parkinson

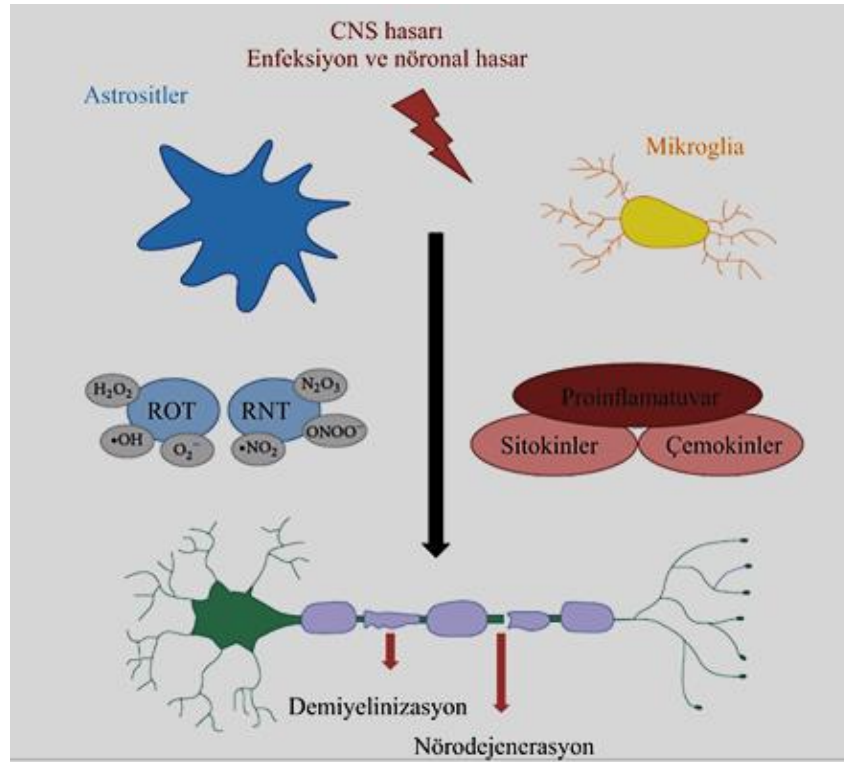
Lipitler beynin polidoymamış yağ asitleri açısından zengin olması ve lipit biliyerlerindeki oksijenin varlığı nedeniyle oksidasyona oldukça yatkındır. Lipit peroksidasyonu oldukça fazla reaktif elektrofilik aldehit oluşumuna neden olan, doymamış yağ asitleri ile oksijenden türetilmiş serbest radikallerin etkileşimini içeren karmaşık bir süreçtir (Reed, 2011). Esasen lipit peroksidasyonu hücre membranlarındaki oksidatif hasarın bir örneğidir. Bu oksidatif hasar oksidatif stres şartları

altında hücrel membranları etkileyen dejeneratif bir prosestir (Babusikova ve diğerleri, 2013). Serbest radikallerin doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girmesi sonucu H açığa çıkar. Lipitler oksidatif olarak parçalanır. Özellikle çoklu doymamış yağ asidi yapısında olan hücre membranlarının hasarlanması açısından önemlidir. Serbest radikaller hücre membranındaki lipitlerden elektron alırlar. Oluşan lipit radikali oksijenle etkileşerek peroksil radikalini, oluşan peroksil radikali de komşu başka bir lipit molekülünden H kopararak yeni bir lipit radikalini oluşturur. Zincirleme oluşan bu reaksiyonlar sonucunda hücre hasarı gerçekleşir. Lipitler, alkoller, malondialdehit, 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) gibi aldehytler oluşan son ürünlerdendir ve genellikle mutajenik veya karsinojeniktirler (Aydın, 2015; Babusikova ve diğerleri, 2013). HNE, malondialdehit (MDA) ve 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHDG) gibi lipit peroksidasyon ürünlerinin oluşumu, mitokondrial solunum zincirinin inhibisyonuna (Kompleks I ve II) da neden olur (Aydın, 2015). Bilindiği gibi PH Lewy cisimcikleri olarak bilinen α -sinüklein proteinlerinin de birikimi ve dopamininin nöronlarda dramatik olarak kaybı ile karakterize bir hastalıktır. Lewy cisimciğinin varlığının yanında parkin ve ubiquitin karboksiterminal hidroksilaz1 (UCHL1) genleri de hastalıkla ilişkilidir. Her ikisi de proteazomların fonksiyonu için önemlidir. Parkin hasarlanmış molekülleri ubiquitin molekülüne yapıştırmaktan sorumlu E3 ligaz olarak görev alır. UCHL1 proteini proteazoma yapıştırdıktan sonra ubiquinini atar. Bu genlerin mutasyonu mitokondriyal disfonksiyonunun, protein degradasyonunun ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların oluşumuna destek verir. Çeşitli kaynaklarda HNE ve malondialdehid gibi katım ürünlerinin Lewy cisimciklerinde bulunduğu ve HNE'nin dopamin kaybını desteklediği rapor edilmiştir. HNE ve protein agregasyonu nedeniyle oluşan dopamin eksikliği PH çeken kişilerin öğrenme ve fiziksel kabiliyetlerini derinden etkileyebilir (Reed, 2011).

2.8. Nöroinflamasyon ve Parkinson

Nöroinflamasyon da mitokondriyal disfonksiyon, ER stresi ve bozulmuş otofaji gibi, oksidatif stresin artmasına yol açarak oluşan kronik nörodejeneratif hastalıkların genel özelliğidir. Bahsedilen diğer durumlar gibi nöroinflamasyon da nöronal hasarı ve nörodejenerasyonu ileri derecede besleyen bir döngü olan inflamasyonu artıran ROT'ların ve reaktif nitrojen türlerinin (RNT) aşırı salınmasına, böylece oksidatif stresin artmasına yol açabilir (Hipkiss, 2007).

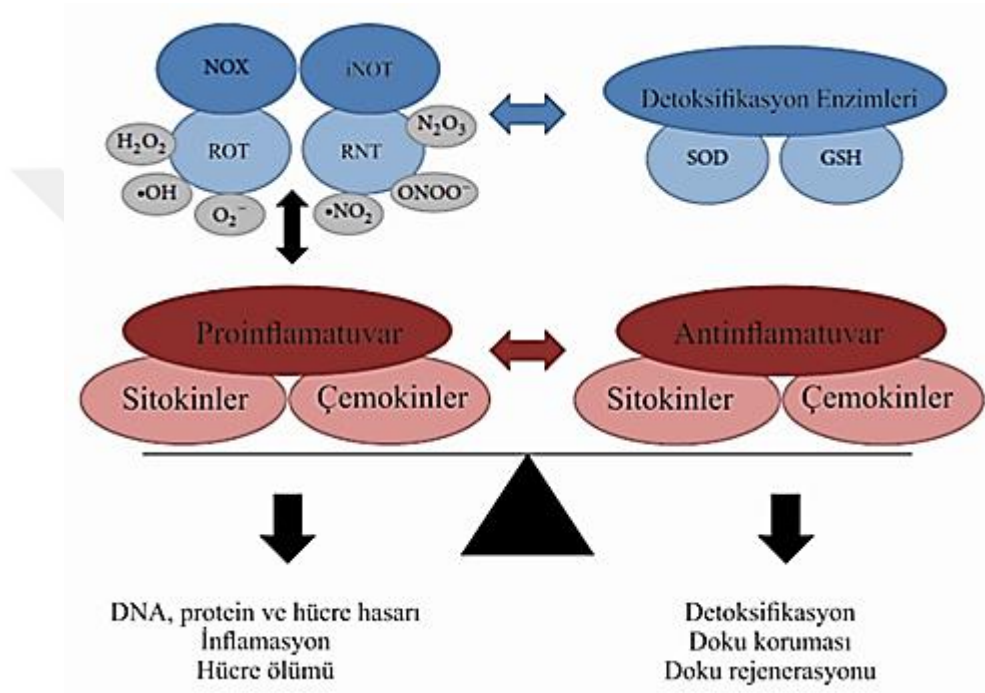
SSS astrosit, oligodendrosit ve mikroglia hücreleri olarak adlandırılan yaklaşık 100 milyar hücre içerir (Hipkiss, 2007). SSS, sıkı endotelial hücreler arasındaki sıkı bağlarla oluşmuş KBB ile vücudun diğer kısımlarından ayrılır. KBB beyne besinlerin ve periferik immün hücreler gibi çeşitli hücrelerin girişini kontrol eder. Bu durum SSS' nin özelleşmiş immün sisteme sahip bir organ olarak çalışmasına sebep olur. Ancak son birkaç on yıldır çeşitli nörodejeneratif hastalıkların artması SSS'nin immünolojik yeteneğinin ve yaralanma ve enfeksiyonlara karşı hızlı cevabının değişmesine yol açmıştır (Amor ve diğerleri, 2010). Genel olarak inflamasyonun oluşması çeşitli hücre ve doku yaralanmalarında hasarlı dokuları ve zararlı ajanları atmaya koruyucu bir cevap niteliğindedir. Fakat inflamasyon kontrol edilemezse bu sefer normal hücre ve dokuların yıkımına ve kronik inflamasyona sebep olur. Bu durum son 30-40 yıldır Parkinson ve Alzheimer gibi hastalıklarla ilişkilendirilir. Bu hastalıklarda olduğu gibi hasarlı nöronların sürekli varlığı mikroglia ve astrosit gibi hücrelerin aktivasyonuna sebep olur. Bu hücreler nörodejenerasyonu tetiklediğini düşündüren nöroinflamatuvar bir çevre üretirler (Amor ve diğerleri, 2010; Fischer ve Maier, 2015). Mikroglia ve astrositlerin nörodejenerasyondaki önemli rolü Parkinsonlu hastaların SN'lerindeki varlıklarının artmış olmasına dayandırılmaktadır (Fischer ve Maier, 2015). Mikroglia ve astrositlerin kronik aktivasyonu ROT ve RNT'lerin üretilmesine neden olur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. SSS'de hücre kaynaklı demiyelinizasyon ve nörodejenerasyonun şematik sunumu. SSS'deki hasar astrosit ve mikroglia hücrelerinin aktivasyonuna yol açar. Bu durum

ROT, RNT, proinflatuvar sitokin ve çimokinlerin salınmasını tetikler. Sonrasında da demiyelinizasyon ve nörodejenerasyon oluşur (Fischer ve Maier, 2015).

NADPH tarafından superoksitin üretimi antioksidan sistem açısından önemli bir fonksiyon olsa da aşırı süperoksit üretimi de nörodejenerasyon oluşumunda önemli bir faktördür. Ayrıca kronik nörodejeneratif hastalıklarda antioksidan sistemin daha az aktif olduğu çeşitli kanıtlarla ispatlanmıştır (Fischer ve Maier, 2015) (Şekil 2.3).



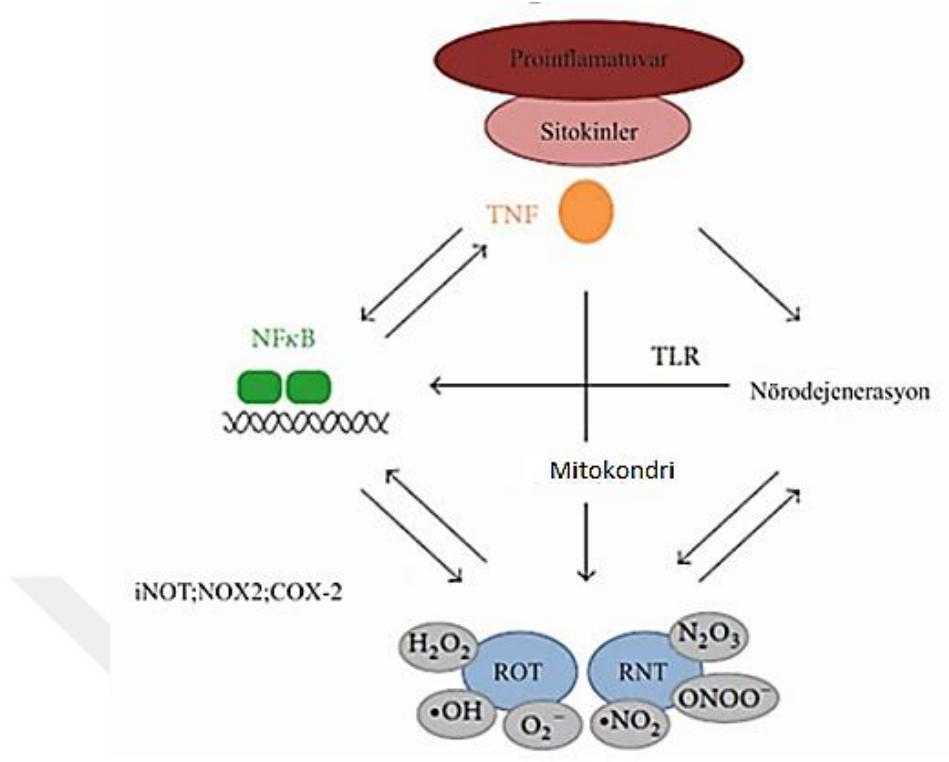
Şekil 2.3. Oksidatif stres / inflamasyon mediyatörleri ile antioksidanlar / anti-inflatuvar mediyatörler arasındaki denge. Sağlıklı bir organizmada oksidatif stres mediyatörleri ve enflamasyon ile detoksifikasyon ve anti-enflatuvar moleküller denge içindedir. Hastalık esnasında bu denge oksidatif stres ve proinflatuvar tarafa doğru kayar, DNA hasarı, inflamasyon ve hücre ölümüne sebep olur (Fischer ve Maier, 2015).

Nörodejenerasyonda ROT üretiminin ve inflamasyonun artması Parkinsondaki mutant α -sinükleinlere önemli rol kazandırır. α -sinükleinlerdeki Parkinson ilişkili mutasyonlar oksidasyon ve agregasyonun artmasına neden olur. Nöron ölümünün ardından oksitlenmiş α -sinüklein mikrogliyalardaki NADPH oksidaz aktivasyonunu artırır, bu durum serbest ROT üretimini artırır, bu artış etkileşim halindeki nöronlarda α -sinüklein oksidasyonunu artırır. Bu dual patojenik mekanizma oksidatif stres ve okside olmuş α -sinüklein tarafından değiştirilen α -sinüklein hücrelerinin mikrogliya gibi hücrelerin aktivasyonunu artırmasıyla

nöronal ölümü beslemesi şeklinde karakterizedir (Dias ve diğerleri, 2013; Gao ve diğerleri, 2011).

2.8.1. Tümör Nekrosis Faktör

Sitokin tümör nekrosis faktör (TNF), TNF reseptör 1 (TNFR1) gibi reseptörler aracılığıyla immün hücrelerin aktivasyon ve dağılımını sağlayarak inflamasyonun artışında önemli bir rol oynayan bağışıklık sisteminin ana regülatörüdür (Hofman ve diğerleri, 1989). TNF kronik nörodejeneratif hastalıkların oluşumunda predominant bir role sahiptir. PH'daki direkt rolü ise sporadik PH oluşum riskini arttırdığı iddia edilen TNF geninde tanımlanmış genetik polimorfizm şeklindedir. Ayrıca TNFR1 reseptörü doğrudan ROT ve RNT üreten enzimlerin aktivasyonunu yaparak oksidatif strese neden olabilir. TNF ile tetiklenmiş hem oksidatif stres hem de inflamasyon nörodejenerasyonun artmasında iş birliği içindedirler (McCoy ve Tansey, 2008). Fakat TNF nörodejeneratif hastalıklarda dual role sahiptir. Stimüle ettiği diğer reseptörü olan TNFR2 aracılığıyla nöroprotektiftir ve doku rejenerasyonunu artırır (Segura-Aguilar ve diğerleri, 2014). Glia hücrelerindeki NFkB yolğunın aktivasyonu, bir yandan proinflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırması, diğer yandan İNOS, COX2 ve NOX'ları üretmesiyle NADPH oksidazın ve buna bağlı ROT'ların üretimine sebep olması açısından TNF' nin zararlı etkilerinin anahtar mediyatörüdür. Yani TNF, NFkB yolğunın cevap genidir. Bu durum nöroinflamasyonu besleyerek nöronal hasarı artırır. NFkB' nin ve TNF, ROT, RNT gibi proinflamatuvar stokinlerin bu merkezi rolü nörodejenerasyondaki inflamasyon ve oksidatif stres arasındaki ilişkiyi açıklar (Fischer ve Maier, 2015). (Şekil 2.4)



Şekil 2.4. ROT ve nörodejenerasyondaki inflamatuvar sitokinler arasındaki ilişki (Fischer ve Maier, 2015)

2.9. Oksidatif Stres

2.9.1. Reaktif oksijen türleri

Serbest radikaller dış orbitallerinde ortaklanmamış elektrona sahip moleküllerdir. Serbest radikaller canlılar üzerindeki faydalı etkilerinin dışında biyolojik olaylar ve hayatın orijini için çok önemli rollere sahiptirler. Gen transkripsiyonu, çözünabilir guanilat siklaz aktivitesinin düzenlenmesi, transdüksiyon gibi hücrelerin biyokimyasal aktivitelerinde oksijen radikalleri görev almaktadır. Nitrik oksit (NO) esas olarak vasküler düz kas hücrelerinde gevşeme ve proliferasyonu düzenleyen, lökosit adezyonu, trombosit agregasyonu, anjiyogenez, vasküler tonus ve hemodinamizmi sağlayan önemli bir serbest radikaldir. İnsanlar sürekli olarak elektromanyetik radyasyon, sigara dumanı ve çevresel kirleticiler tarafından üretilen serbest radikallere maruz kalırlar. Radon, kozmik radyasyon gibi doğal kaynakların yanında hücresel metabolizmalar (solunum, enzimatik reaksiyonlar) da çevreye serbest radikal yayarlar. En yaygın hücresel serbest radikaller hidroksil ($\text{OH}^\cdot$), süperoksit anyonu ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ve nitrik monoksittir (NO) (Uttara ve diğerleri, 2009). Hidrojen peroksit (H_2O_2) ve peroksinitrit

(ONOO^-) hücrel serbest radikal değildir. Onlar çeşitli kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan reaktif oksijen türleridirler. Biyolojik sistemlerdeki en önemli radikaller oksijenden türeyen radikallerdir ve bunlara **ROT** denir (Bolisetty ve Jaimes, 2013). Serbest radikaller organizmada endojen ve ekzojen etmenlere bağlı olarak meydana gelmektedirler (Ding ve diğerleri, 2016).

Çizelge 2.8. Serbest Radikal Oluşturan Endojen ve Ekzojen Etmenler

Endojen Etmenler	Ekzojen Etmenler
Mitokondri	Stres,
Nitrojen oksit sentaz	Virus,
Fagositoz	Enfeksiyon, ilaçlar
Peroksizom	Parakuat, allosan, pestisit,
CYP ₄₅₀ enzimleri	CCl ₄ , UV, iyonize radyasyon
NADPH oksidaz	Antineoplastikler,
Ksantin oksidaz	Trisiklik Antidepresanlar,
Hem Proteinleri	Cd, PCB, Ni, civa, ozon
Endoplazmik Retikulum	

O_2^- radikali superoksit dismutaz (SOD) enzimi ile daha stabil bir form olan hidrojen peroksit (H_2O_2) 'e dönüşebilir. Katalaz, glutatyon peroksidaz ve diğer peroksidazlarla H_2O_2 'ya kadar bölünebilir. Yine demir (Fe) iyonu tarafından Fenton reaksiyonu ile H_2O_2 'den OH^- radikaline dönüşmektedir (Kim ve diğerleri, 2015; Aydın, 2015).

2.9.2. Antioksidan yolak

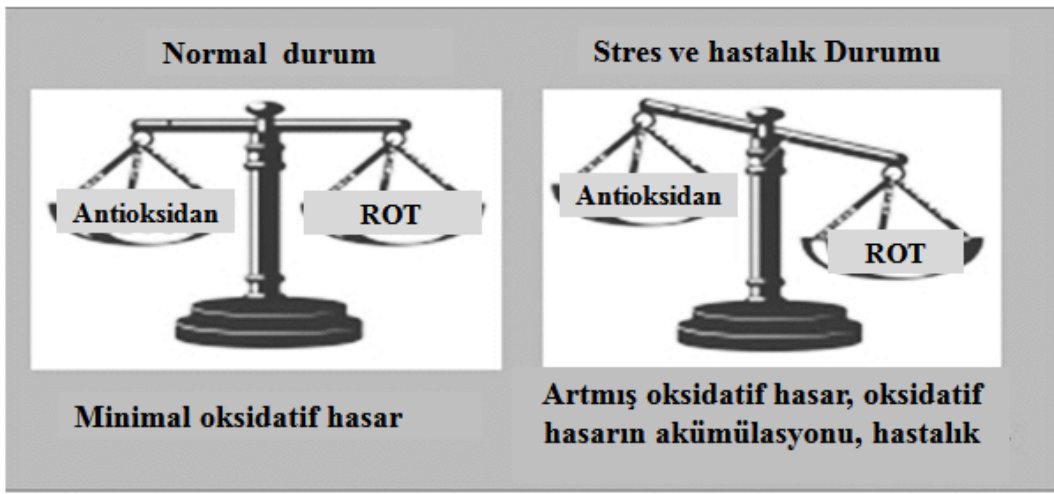
Tüm aerobik organizmalar ROT aracılıklı hasarlara karşı koymak için hem enzimatik hem de non-enzimatik antioksidan savunma sistemi geliştirmişlerdir. Antioksidan molekül ve enzimler hücrel ROT seviyesini düşürerek hedef molekülü oksidatif hasardan koruyabilirler (Kim ve diğerleri, 2015).

Çizelge 2.9. Bazı antioksidanlar (Kim ve diğerleri, 2015)

Enzimatik Antioksidanlar	Non-enzimatik Antioksidanlar
Superoksit Dismütaz (SOD)	Vitamin E Koenzim Q
Glutatyon Peroksidaz (GPX)	Vitamin C Glutatyon
Katalaz	Vitamin A Transferrin
Peroksiredoksin (PRX)	Çinko Ubikinon
Glutatyon Peroksidaz (GSH)	Selenyum Mannitol
Epoksit Hidralaz	Resveretrol Sistein
NADPH Kinon Oksidoredüktaz	Melatonin Likopen
İzositrat Dehidrogenaz	Albumin Bilirubin

Sebze, meyve ve tıbbi bitkilerin diyet ile alımı ve çeşitli vitaminlerin serbest radikallere karşı koruyucu etkileri vardır. Oksidatif stresin yaşlanma ve diğer olumsuz etkilerini bertaraf edebilirler.

Stokrom P₄₅₀ enzimleri besinlerden ve çeşitli kimyasallardan alınan toksinlere karşı organizmayı koruyan önemli bir antioksidan savunma mekanizmasıdır. Ancak bu enzimler bile akut toksik etki durumunda DNA'ya hasar veren bazı oksidatif ürünler meydana getirmektedirler (Uttara ve diğerleri, 2009).



Şekil 2.5. Hastalıkların gelişiminde ROT'lar. Dengenin ROT'lar yönünde bozulması oksidatif stresi artırır. Artmış ROT seviyesi biyomoleküllerin oksidatif hasarına ve hastalıkların gelişmesine neden olur (Hybertson ve diğerleri, 2011).

Serbest radikallerin aşırı üretimi biyomoleküllerde oksidatif hasara neden olmaktadır. Sonuçta birçok hastalık ve yaşlanma meydana gelmektedir (Uttara ve diğerleri, 2009).

Çizelge 2.10. Oksidatif Stres ve İlgili Patolojiler (Aydın, 2015)

Kanser	Değişik Kanser Türleri
Yaşlanma	Yaşlanma, Yaşla İlgili Hastalıklar
Kalp	Aterosklerozis, Doksorubisin, Kardiyotoksikite, Keşan Hastalığı
Sinir Sistemi	Alzheimer Hastalığı, Parkinson Hastalığı
Göz	Katarakt, Prematüre Retinopatisi
GI Kanal	CCl ₄ gibi Halojenli Hidrokarbonların Sebep Olduğu Karaciğer Hastalığı
Enfeksiyon Hastalıkları	AIDS, Malarya
İltihabi Hastalıklar	Chron Hastalığı, Romatoid Artrit
Solunum Yolu	Sigara Dumanının Etkisi, Astım, Paraquat Toksisitesi, Hava Kirleticiler
Deri	UV Radyasyon, Psoriasis

ROT'lar oksidatif stres sonucu hücrelerde DNA, protein, lipid, karbonhidratlar gibi biyomoleküllerle etkileşime girmekte ve sonuçta meydana gelen oksidatif DNA hasarı mutajenite, karsinojenite ve yaşlanmaya yol açmaktadır (Aydın, 2015). Oksidatif stres DNA üzerindeki; baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA protein çapraz bağlanması gibi lezyonlara yol açmaktadır (Babusikova ve diğerleri, 2013).

PROTEİNLER	LİPİDLER	DNA
SH grupları	Malondialdehit	2,4-diamino-4-OH-formamidopirimidin
GSH/GSSG	8-İzoprostaglandin	5-hidroksi-sitozin
3-nitrotirozin	F2-izoprostan	8-hidroksi-deoksi-guanozin
3-klorotirozin	TBARS	4,6--diamino-5-formamidopirimidin
Ditirozin	Konjuge dienler	8-hidroksi guanozin
Karbonilli proteinler	4-hidroksi-2-nonenal	8-hidroksi adenin

Şekil 2.6. Oksidatif Stresin göstergeleri: Proteinler, lipidler ve DNA ROT'ların asıl hedef bölgeleridirler (Babusikova ve diğerleri, 2013)

2.9.3. Beyin ve oksidatif stres

PH 'da beyin majör organ olduğu ve sunulan tez çalışmasında oksidatif stresin neden olduğu hasarların onarımından sorumlu enzim polimorfizmleri analiz edildiği için bu bölümde beyin ve oksidatif stres ilişkisinde anahtar noktalar sunulmuştur.

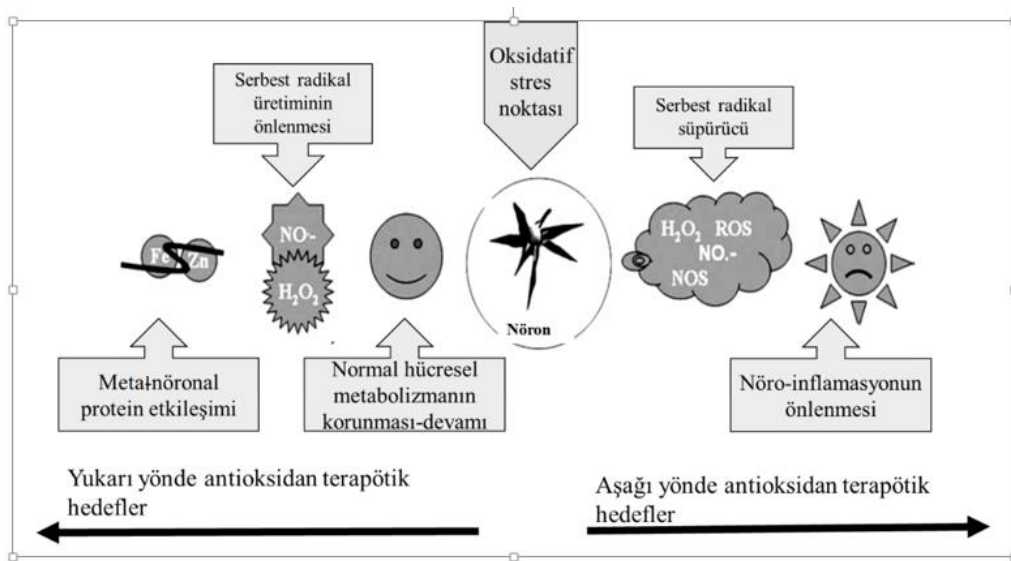
Beyin moleküler olarak organizmadaki en aktif organlardan biri olduğu için oksidatif strese daha duyarlıdır.

- Vücuttaki oksijen tüketiminin %20'si beyinde meydana gelmektedir.

- Demir, bakır gibi ROT üretimini katalizlemekte gerekli olan aktif redoks metalleri beyinde yoğun olarak bulunmaktadır.
- Lipit peroksidasyonu için gerekli doymamış yağ asitleri beyinde yüksek oranda yer almaktadır.
- Endojen antioksidan savunma mekanizmasında önemli role sahip GSH enzimi beyinde az miktarda bulunmaktadır (Kim ve diğerleri, 2015).

2.9.4. Nörodejeneratif hastalıklar ve oksidatif stres

Nörodejeneratif hastalıklar beyin ve spinal korteksteki hücrelerin fonksiyonel (ataksi) ve duyu (demans) kaybı ile karakterize hastalıklardır. Mitokondriyal fonksiyon bozuklukları, eksitotoksisite ve son olarak apoptozun yaşlanma ve Parkinson, Alzheimer, MS gibi nörodejeneratif patolojilere sebep olduğu rapor edilmiştir. Dopamin iyi bir nörotransmitter olmasının yanında iyi bir metal şelatörü ve elektron donörüdür. Bu nedenle in vivo şartlarda toksik serbest radikal üretir. H_2O_2 üretimine neden olan Fenton tepkimelerinde Fe^{+3} ve Cu^{+2} ile koordinasyon kurmaya eğilimlidir. Çeşitli kanıtlar α -sinüklein proteinlerindeki mutasyonların dopamin aktivitesini negatif yönde değiştirdiğini, nöronal sitoplazmik birikim başlattığını, böylece demirle dopaminin etkileştiğini ve ROT üretiminin meydana geldiğini göstermiştir (Uttara ve diğerleri, 2009).



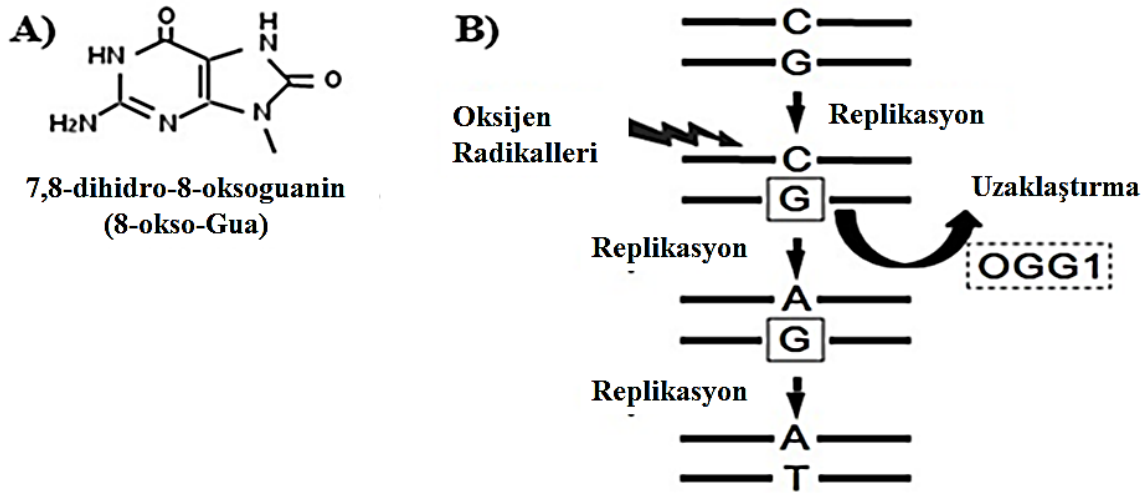
Şekil 2.7. Nöronal dejenerasyona sebep olan oksidatif stres öncesi ve sonrası antioksidanların stratejisi (Uttara ve diğerleri, 2009)

Kemilüminesans metodu kullanılarak Parkinsonlu hastaların tam kanlarındaki antioksidan kapasitesi ölçülebilmektedir. Bu metodla yapılan araştırmalara göre Parkinsonlu hastalarda artmış ROT oranıyla baş edebilmek için antioksidan kapasitenin de arttığı düşünülmektedir. Hastalığın evresine göre hastaların kanlarında ROT'ların ve antioksidanların oranında anlamlı farklılıklar olduğu düşünülür. Mesela Parkinsonlu hastaların geç evre aşamalarında artmış antioksidan kapasite ve azalmış oksidatif stres gözlenmiştir. PH'nın erken evresinde antioksidan kapasitenin mi yoksa ROT seviyesinin mi arttığı konusunda ise daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (Hughes ve diğerleri, 2018).

Ayrıca α -sinüklein proteinlerindeki mutasyon, dopamin-metal etkileşimi ve ROT üretimindeki disregüle olan intraselüler yolları destekler. Örneğin nöromelanin, fonksiyonu bilinmeyen koyu kahverengi bir pigmenttir. Ancak yaşlanmış beyindeki redoks metallerini akümüle ettiği ve dopaminin redoks kimyasını desteklediği kuvvetli kanıtlarla desteklenmektedir (Uttara ve diğerleri, 2009).

Yaşlanma sürecinde beyindeki DNA hasarı ve onarımı

Özellikle hayatının son çeyreğinde yaşa bağlı olarak artmış ROT seviyesi oksidatif hasara sebep olmaktadır (Radak ve diğerleri, 2011). Guanin(G) potansiyel DNA bazları arasında en düşük redüksiyon özelliği nedeniyle oksidasyona en eğilimli olan bazdır. Başlıca OH⁻ radikali tarafından değiştirilir (Boiteux ve diğerleri, 2002). G'nin 20' den fazla oksidasyon ürünü tanımlanmıştır ve bunların arasında en çok çalışılanı 8-okso-7, 8-dihidroguanindir (8-oksoG) (Boiteux ve diğerleri, 2002). DNA'daki 8-oksoG seviyesi yaşlanma, nörodejeneratif hastalık veya iskemiyle artmaktadır. 8-oksoG onarılmadığında mutajeniktir, G:C-T:A transversiyonunu tetikleyerek *Sitozin* (C) yerine Adenin (A) ile bağ oluşturur (Tamae ve Hirano, 2012). OH⁻ radikali, G'nin 4, 5 ve 8. pozisyonlarındaki karbon atomları ile reaksiyona girer ve DNA ürün radikallerini oluşturur. OH⁻ radikalinin C-8'e katılması ile oluşan katılma ürünü radikali (C8-OH⁻) bir elektron ve proton kaybederek 8OHGua'e okside olur (De Martinis ve Bianchi, 2002). 8-oksoguanin aynı zamanda iyi bilinen bir DNA hasar belirticidir (Sheng ve diğerleri, Nakabeppu, 2012). 8-oksoG **BER** sırasında memelilerdeki fonksiyonel homolog olan *8-OksoGuanine DNA glikozilaz (OGG1)* tarafından DNA'dan çıkarılır.



Şekil 2.8. *OGG1*: DNA da oluşan 8-oksoG’yi atan 8-OksoGuanin DNA glikozilaz enzimi (Sheng ve diğerleri, Nakabeppu, 2012) A) 8-oksoG B) C:G---T:A mutasyonu.

OGG1 gibi asetilasyonla modifiye olabilen belli başlı DNA onarım proteinleri DNA’yı onarabilirler. Bu nedenle asetil transferaz ve deasetilaz proteinleri yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklarda önemlidir. Aslında yaşlanma *OGG1* seviyesini artıran bir parametredir. Ancak yaşlılıkla *OGG1*’in asetillenmesi azaldığından 8-oksoG seviyesi önemli derecede artar (Loft ve diğerleri, 2008).

2.10. Parkinsonun Etiyoloji / Patofizyoloji ve Klinik Belirtileri

Parkinson insanlarda ve hayvanlarda beyne ait birçok fonksiyonun yerine getirilmesinden sorumlu dopamin salgılayan hücrelerin nöronal dejenerasyonu nedeni ile oluşur. Dopaminerjik nöronların kaybının yanında Lewy cisimciklerindeki α -sinüklein proteinlerinin de birikimi söz konusudur. Lewy cisimcikleri, ilgili sinir hücrelerini ve sinir hücresi bağlantılarını yok ederler ve nörotransmitterlerin alışverişini durdururlar. Bu nedenle bu hatlarda daha önce de detaylı anlatıldığı gibi artık bilgiler iletilemez ve hareket, dikkat kontrolü gibi fonksiyonlarda bozukluklar meydana gelir (Olanow ve Brundin, 2013; Olanow ve diğerleri, 2009).

Çizelge 2.11. Parkinson Hastalığının Genel Semptom ve Belirtileri (Kalia ve Lang, 2015)

Motor Belirti/Semptomlar	Nonmotor Belirti/Semptomlar
Tremor	Sabit hareketsiz görünüş
Bradikinezi	Tekdüze duygulanım
Düşme	Aşırı salivasyon
Ayakları sürüyerek yürüme	Koku alamama
Kambur duruş	Depresyon/anksiyete
Akinezi	Psikotik sendromlar
Kas sertliği	Uykunun bölünmesi
Donuk episod	Otonomik fonksiyon bozukluğu
Mikrofaji	Kognitif bozukluklar
	Konstipasyon
	Disfaji
	Azalmış ses seviyesi
	Telafuzda zorlanma
	Açıklanamayan ağrılar
	İdrar tutamama

PH progresif aşamalı bir hastalıktır. Başlangıç evresi 1-5 yıl sürer ve ilaçla motor hareketler kontrol altına alınabilir. Orta evre olan 5-10 yıl arasında on-off dalgalanmaları, wearing off gözlemlenir. Yaklaşık 17 yıl sonra hastaların %80'inde yürümede donukluk, düşme ve %50'inde boğulma durumu görülür. Geç evrede ilaç rezistansı önemli bir sorundur. Demans da geç evre işaretidir ve hastalığın 10 yılını dolduranların %60'ında, 20 yıllık geçmişi olanların %83'ünde görülmektedir (Kalia ve Lang, 2015).

2.11. Parkinsonda Teşhis ve Tedavi

Parkinsonun teşhisi klinik belirtiler ve semptomlara dayanır. Dopamin ilaçlarının (dopamin agonistleri ve L- dopa) verilmesiyle oluşan cevabın gözlenmesi en yaygın kullanılan teşhis yöntemidir. Teşhiste manyetik rezonans (MR) ya da tomografik yöntemlerin kullanılması fayda sağlamayabilir.

Parkinson için halen kesin tedavi şekli yoktur. Tedavide amaç semptomatik ve diskineziyi en aza indirmektir. Tedavide kullanılan ilaçlar Çizelge 2.12.'de sunulmuştur (Çizelge 2.12).

Çizelge 2.12. Parkinson Hastalığında Yaygın Olarak Kullanılan İlaçlar (Gazewood ve diğerleri, 2013)

İlaç	Kullanım Amacı	Oluşabilecek Yan Etkiler
levodopa-karbidopa levodopa-benserazid	günlük hayatın enstrümental aktivitelerini yapabilme yeteneğini uzatır, bu aktiviteleri kontrol edememeye karşı en etkin ilaç	bulantı, diskinezi, distoni, konfüzyon, sedasyon, ortostatik hipotansiyon, psikotik belirtiler
dopamin agonistleri bromokriptin pramipeksol ropinirole rotigotin apomorfin (enjekte edilebilir)	motor semptomlar	bulantı, hipotansiyon, bacak ödemi, canlı rüyalar, impuls kontrol bozukluğu, halüsinasyonlar (özellikle yaşlılarda), uyku hali ve uykuda ani saldırı
Monoaminoksidadaz inhibitörleri B selegilin rasajilin	erken hafif semptomlarda, bütün motorbozukluğu semptomlarında en yaygın kullanılan yardımcı ilaç	selegilin: Uyarıcı etkisi, baş dönmesi, baş ağrısı, konfüzyon ve levodopanin yan etkilerinin şiddetlenmesi rasajilin: Baş ağrısı, eklem ağrısı, dispepsi, depresyon, grip benzeri sendrom, levodopa yan etkilerin şiddetlenmesi ve kabızlık serotonin sendromu
katekol-O-metil transferaz inhibitörleri (COMT'lar) entakapon tolkapon	erken hafif semptomlarda, bütün motorbozukluğu semptomlarında en yaygın kullanılan yardımcı ilaç	koyu renkli idrar, alevlenme levodopa yan etkiler, ishal ve hepatotoksisite
antikolinergik benztropin trihekzifenidil	Tremor	halüsinasyonlar, bulantı, ağız kuruluğu, bulanık görme, idrar atamama ve kabızlık
beta blokör propranolol	Tremor	yorgunluk, baş dönmesi ve depresyon
antipsikotik klozapin	tremor, diskinezi	agranülositoz, miyokardit, nöbetler, sedasyon ve ortostatik hipotansiyon
antiviral amantadin	yürüme bozukluğu, diskinezi	halüsinasyonlar, konfüzyon, bulanık görme, ayak bileği ödemi, livedo retikularis, bulantı, ağız kuruluğu ve kabızlık

On-Off Durumu

Parkinson semptomları tedaviyle kontrol altına alındığında hasta ve klinisyenler tarafından “ON” durumu diye adlandırılır. Semptomların ilaca rağmen kontrol edilememesi durumu ise “OFF” şeklinde adlandırılır. Parkinsonlu hastalar “on” ve “off” dalgalanmaları içindedir (Kalia ve Lang, 2015).

Wearing Off: Parkinsonlu hastalarda L-dopanin başlangıç dozuna cevap alınması ancak zamanla yetersiz kalmasıdır (Hou ve diğerleri, 2015). L-dopa PH tedavisinde en yüksek yararı sağlamasına rağmen etkinliğinin zamanla azalması nedeniyle klinisyenler tarafından en geç

tercih edilen seçenektir. L-dopa periferik yıkımının engellemesi için karbidopa ile birlikte reçete edilir. L-dopa ya da dopamin agonistleri etkinliğini kaybettiğinde; etkinliğini artırmak için başka bir dopamin agonistinin eklenmesi, içine L-dopanin dozunu bölerek daha küçük ama daha sık dozlarda vermek ya da bir katekol- O-metil transferaz (COMT) inhibitörü veya Monoaminoksidaz (MAO) inhibitörü eklemek gibi kullanılan çeşitli stratejiler vardır (Connolly ve Lang, 2014).

2.12. DNA Hasarı ve Oluşum Mekanizması

DNA'nın moleküler bütünlüğünde endojen veya ekzojen faktörlerin etkisiyle oluşan tüm değişiklikler **DNA hasarı** olarak adlandırılmaktadır (Sancar ve Kulaksız, 2007). DNA hasarı, hücreler için sürekli bir tehdittir; sitotoksositeye ve ayrıca genetik değişimlere neden olmaktadır (Wyrick ve Roberts, 2015). Çevresel faktörlerin etkisiyle sürekli tehdit altında olan DNA'nın yapısında ayrıca DNA replikasyonu ve DNA rekombinasyonu gibi hücresel olaylar sırasında da endojen olarak değişiklikler oluşabilir (Friedberg, 2015). Hücreler DNA hasarının bu zararlı sonuçlarını azaltmak için kolektif olarak fonksiyon gören karmaşık ve büyüleyici sistemler (DNA onarımı, hasar toleransı, hücre döngüsü kontrol noktaları ve hücre ölüm yolları) ile donatılmıştır (Sancar ve Kulaksız, 2007).

DNA hasarı, kökenine göre iki ana sınıfa ayrılabilir: endojen ve ekzojen. Endojen DNA hasarının çoğunluğu, hücreler içinde doğal olarak bulunan su ve ROT ile hidrolitik ve oksidatif reaksiyonlara giren kimyasal olarak aktif DNA'dan kaynaklanır. DNA'daki bu tür tepkimeler, kalıtsal hastalıkların ve sporadik kanserlerin gelişmesine neden olur. Öte yandan, ekzojen DNA hasarı, çevresel, fiziksel ve kimyasal etkenler DNA'ya zarar verdiği zaman ortaya çıkar. Örnekler, UV ve iyonize edici radyasyon, alkileyici ajanlar ve çapraz bağlama ajanlarıdır (Chatterjee ve Walker, 2017).

Endojen etkenler

- Replikasyon hataları, DNA baz uyumsuzlukları ve topoizomeraz-DNA kompleksleri
- Spontan baz deaminasyonu
- Abazik (apürinik/apirimidik-AP) bölgelerdeki baz kayıpları
- Oksidatif DNA Hasarı

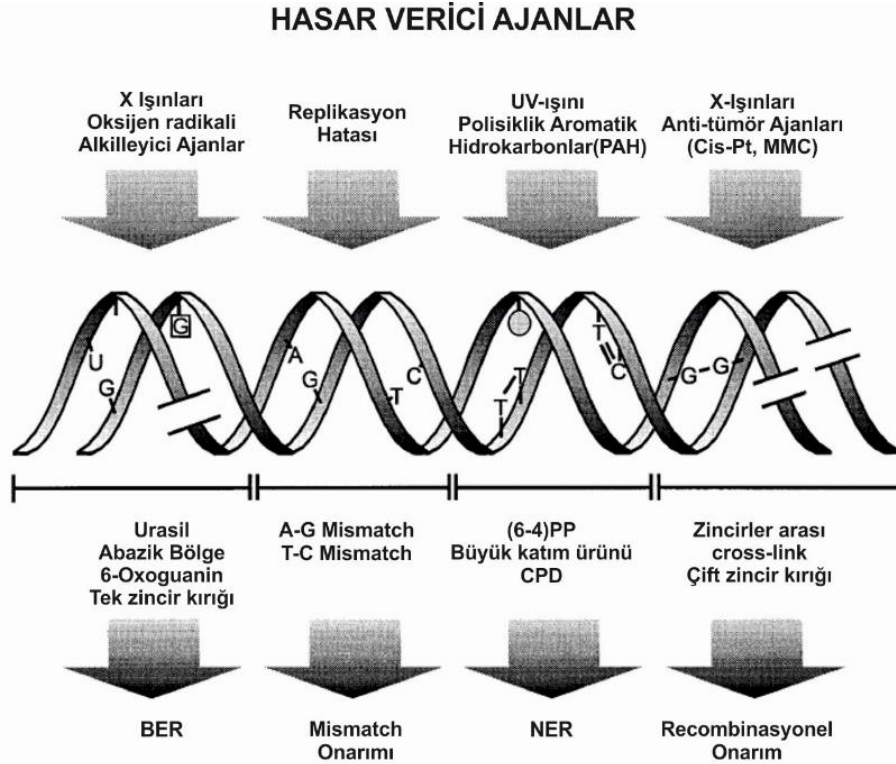
- DNA Metilasyonu (Chatterjee ve Walker, 2017)

Ekzojen etkenler

- **Fiziksel Ajanlar**
 - İyonize Radyasyon
 - UV Radyasyon
- **Ekzojen Kimyasal Ajanlar**
 - Alkilleyici Ajanlar
 - Aromatik Aminler
 - Polisiklik Aromatik Aminler
 - Diğer Reaktif Elektrofiller
 - Toksinler
 - Çevresel Stres (Chatterjee ve Walker, 2017)

2.12.1. DNA'da oluşan hasar çeşitleri

- Tek Baz Değişimleri
- Deaminasyon (sitozinin urasil, adeninin hipoksantine dönüşümü)
- Pürin/Pirimidin Baz Kaybı
- Nükleotit Kaybı ya da Kazanımı
- Baz Anologları Yer Değişimi
- İki Baz Değişimleri
- imin Timin Dimerleri
- Replikasyon Hataları
- Zincir Kırıkları
- Tek Sarmal Kırıkları
- Çift Sarmal Kırıkları
- Çapraz Bağlanmalar
- Aynı veya Zıt İplikler Arasında
- DNA ve Protein Arasında (ör:Histonlar) (Sancar ve Kulaksız, 2007; Wyrick ve Roberts, 2015; Friedberg, 2015; Chatterjee ve Walker, 2017)



Şekil 2.9. DNA Lezyonları ve Onarım Mekanizmaları. Üstte; yaygın DNA hasar oluşturuvcu ajanlar. Ortada; bu ajanlar tarafından DNA heliksinde oluşan lezyonlar. Aşağıda; bu lezyonları onarmada en sık kullanılan onarım mekanizmaları (Boer ve Hoeijmakers, 2000).

2.12.2. DNA onarım mekanizmaları

Esasen DNA hasarı, bir hücrenin yaşamında yaygın bir olaydır ve mutasyona, kansere ve hücre ölümüne yol açabilir (Friedberg, 2015). DNA hasarı hücreyi elimine etmek, hücrenin hasarla baş edebilmesini sağlamak, programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) aktive etmek veya potansiyel katastrofik mutasyonlu hücreleri elimine etmek gibi çeşitli hücre cevaplarının oluşumunu indüklemektedir (Sancar ve Kulaksız, 2007). Organizmanın kendini korumak için oluşturduğu olası reaksiyonel cevaplar aşağıda sunulmuştur.

(a) Hasarlı DNA'nın uzaklaştırılması ve DNA çift zincirinin doğru olarak yapılandırılması;

(b) Hücre döngüsünün ilerlemesinin engellenmesi, böylece hasarlı genetik materyalin onarımına imkân sağlanması ve hasarlı kromozomların genetik geçişinin önlenmesi gibi DNA hasar kontrol noktalarının aktivasyonu;

(c) Transkripsiyonel cevap; hücrenin yararlarına olacak şekilde hücredeki gen transkripsiyon profilinin değişmesi

(d) Çok hasar görmüş veya ciddi şekilde deregüle edilememiş hücreleri ortadan kaldıran apoptoz (Sancar ve diğerleri, 2004).

Bu cevaplardan herhangi birinin fonksiyon görmemesi mutasyon, genetik hastalıklar, kanser veya yaşlanma ile sonuçlanmaktadır. DNA onarım mekanizmaları arasında **doğrudan onarım, BER, nükleotit kesip çıkarma onarımı (NER), çift sarmal kopması onarımı, çapraz bağların onarım mekanizması, yanlış eşleşme onarım mekanizması** gibi çeşitli DNA onarım mekanizmaları bulunmaktadır (Sancar ve diğerleri, 2004; Boer ve Hoeijmakers, 2000).

DNA molekülünde endojen ya da ekzojen herhangi bir etki sonucu DNA bazlarında oluşan zararlı değişiklikler DNA'nın çift zincir yapısı nedeniyle tolere edildiği için doğrudan yapısal değişiklik oluşturmazlar. Her ne kadar bu böyleyse de moleküler biyolog Frances Crick "DNA'nın çift zincir olmasına bakarak DNA onarım mekanizmasındaki enzimlerin olası rolünü tamamen gözden kaçırdık" diyerek öz eleştiri yapmıştır. 1994'te Science dergisi "DNA onarım enzimleri" ni yılın molekülü olarak duyurmuştur. 2015 yılında Nobel Ödülü alan Thomas Lindahl, Paul Modrich ve Aziz Sancar, DNA hasarı ve onarım mekanizmalarının önemini ve insan sağlığına olan etkilerini vurguladılar (Cleaver, 2016).

DNA Baz hasarının onarımı

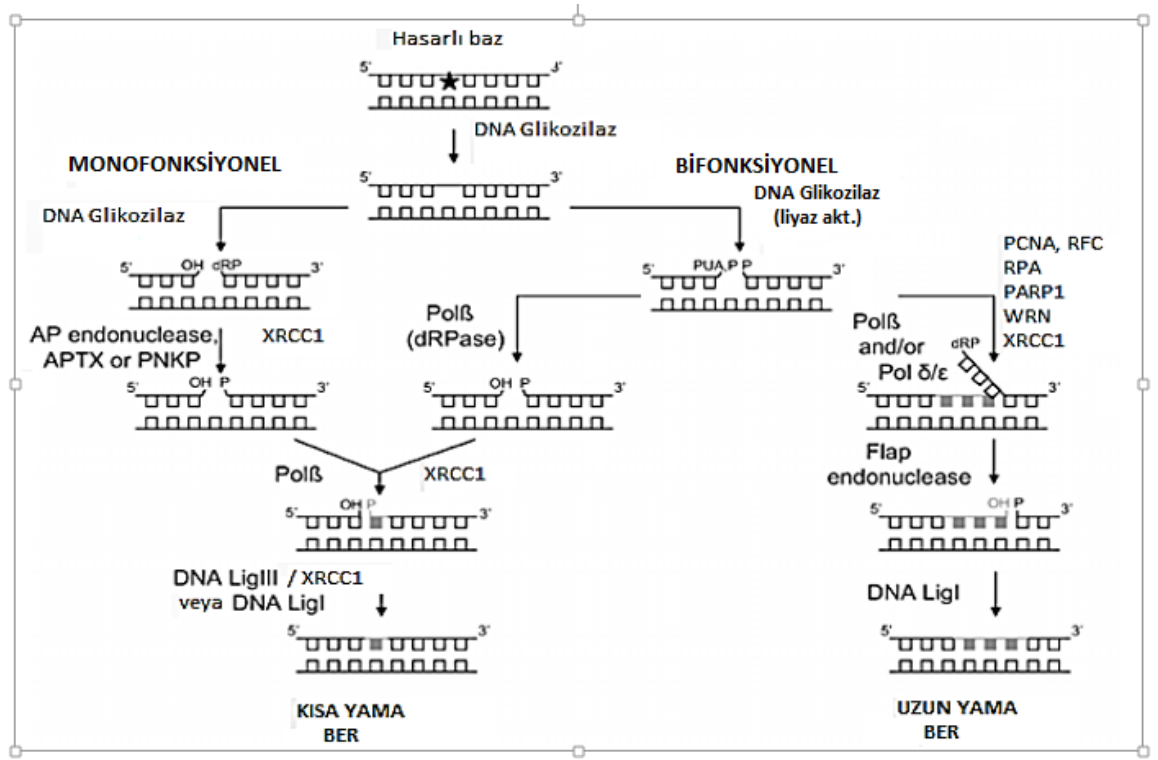
Hasarın tersine çevrilmesi

DNA lezyonlarının küçük alt kümeleri - UV fotolezyonları ve alkillenmiş bazlar - hatasız bir şekilde basitçe tersine çevrilir (Chatterjee ve Walker, 2017). Farklı enzim sınıfları, insanlarda ve memelilerde alkillenmiş bazları tersine çevirir. Bunlardan birisi, O6-alkilguanin-DNA alkiltransferaz (AGT / MGMT) enzimi, O6-metil, etil, 2-kloroetil, benzil ve alifatik gruplarını, G'nin piridilokobutil katım ürünlerini ve hatta O6-G-alkil-O6-G interstrand çapraz bağları gibi O ile alkillenmiş DNA lezyonlarını tersine çevirir (Pegg, 2011). AGT kanser alanında özel ve kompleks bir öneme sahiptir. Bir yandan, AGT'nin farklı bir dizi substratı hedefleme potansiyeli, kanser kemoterapisine karşı direnci kırmak için terapötik alkilleme ajanları ile

kombinasyon halinde kullanılabilen psödosubstratların sentezlenmesi için kullanılmaktadır (Tubbs ve diğerleri, 2007). Öte yandan, AGT ekspresyonu eksikliği bazı kanser gruplarıyla ilişkilidir (Lee ve diğerleri, 2011).

Baz kesip çıkarma onarımı (BER)

BER, DNA sarmalında küçük lezyonlu basit bozulmalar olarak görülen oksidasyon formları, deaminasyon, alkilasyon ve abazik tek baz hasar formlarını düzeltir. Çekirdekte, bu onarım prosesi hücre döngüsünün G1 fazında aktiftir (Dianov ve Hubscher, 2013).

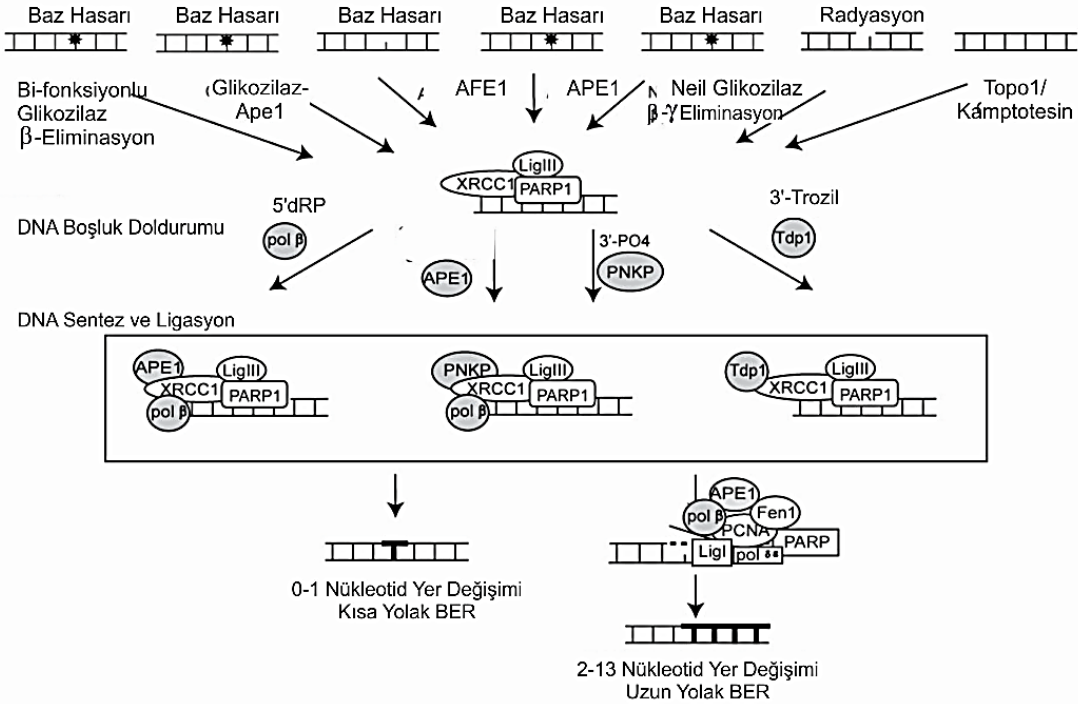


Şekil 2.10. Memelilerde BER yolağı ve alt yolakları. BER DNA glikozilaz tarafından lezyonun tanınması ve çıkarılmasıyla başlar. Monofonksiyonel DNA glikozilaz tarafından hasarlı bazın çıkarılmasından sonra AP endonükleaz tarafından kırık zincir onarılır. Böylece 3'OH ve 5' deoksiriboz –fosfat oluşur (dRP). Bifonksiyonel DNA glikozilaz şeker-fosfat yapısını kırar ve 5' fosfat, 3' fosfat veya polidoymamış aldehit (PUA) oluşturur (Baute ve Depicker, 2008).

BER transeksiyonunda, DNA lezyonları baza özgü DNA glikozilaz enzimi tarafından uzaklaştırılır ve DNA hasar bölgesindeki kromatin yeniden şekillenir (Odell ve diğerleri, 2013). En az 11 farklı DNA glikozilazı tanımlanabilir ve bunlar hasar görmemiş heliksten

hasarlı bazı çıkarabilirler (Huffman ve diğerleri, 2005). Fonksiyonel olarak, DNA glikozilazları ya monofonksiyoneldir; urasil glikozilazlar, N-metilpurin DNA glikozilaz (MPG) ve MutY Homolog (MUTYH) gibi sadece glikozilaz aktivitesi gösterirler ya da bir glikozilaz ve ilave bir β -liyaz ile bifonksiyoneldir; örneğin N-benzeri DNA glikozilaz 1 (NTHL1), Nei benzeri DNA glikozilaz 1 (NEIL1) ve Nei benzeri DNA glikozilaz 2 (NEIL2) (Jacobs ve Schar, 2012). 8-oksoG DNA glikozilazın (*OGG1*) ve NEIL3'ün hem mono- hem bifonksiyonel glikozilaz olarak işlev gördüğü unutulmamalıdır (Svilar ve diğerleri, 2011). Monofonksiyonel glikozilazlardan oluşturulan abazik bölge kısa yama-onarım (Short Patch Repair) yolağına bağlanırken, bifonksiyonel glikozilazlar BER'in uzun yama onarım (Long Patch Repair) yolağını başlatırlar (Dianov ve Hubscher, 2013). Kısa yama onarımında, DNA glikozilaz enziminin hasarlı bölgeyi çıkarması sonucu AP (apürinik/apirimidik) bölgeleri oluşur, bu abazik bölgeler AP endonükleaz (insan hücrelerinde APEX1) için bir substrattır. AP endonükleaz fosfodiester bağını hidroliz eder; 5' ucundan kopartarak 3'-ucuna bir deoksiriboz fosfat (dRP) bırakarak bir hidroksil artığı oluşturur. Oluşan bu artık, POL β 'nin 5'-dRP liyaz aktivitesi ile düzeltilir ve POL β 'nin LIG1 (DNA ligaz 1) veya kompleks LIG3 (DNA ligaz 3) ve *XRCC1* (X-ray çapraz tamamlayıcı protein 1 onarımı) enzimi tarafından doldurulur (Almeida ve Sobol, 2007). Uzun yama onarımında bifonksiyonel glikozilazın oluşturduğu AP boşluğunu APEX1'in 3' fosfodiesteraz aktivitesi düzenler. Daha sonra, POL β (prolifere olmayan hücrelerde) veya POL δ / ϵ (prolifere hücrelerde) birçok nükleotit ekleyerek dRP'yi *flap* artığı olarak değiştirir. 'Flap endonükleaz (FEN-1)' ve LIG1 aracılı ligasyon ile *flap* uzaklaştırılarak sentez tamamlanır (Akbari ve diğerleri, 2009).

Lezyon Tanıma ve Zincir Kesikleri

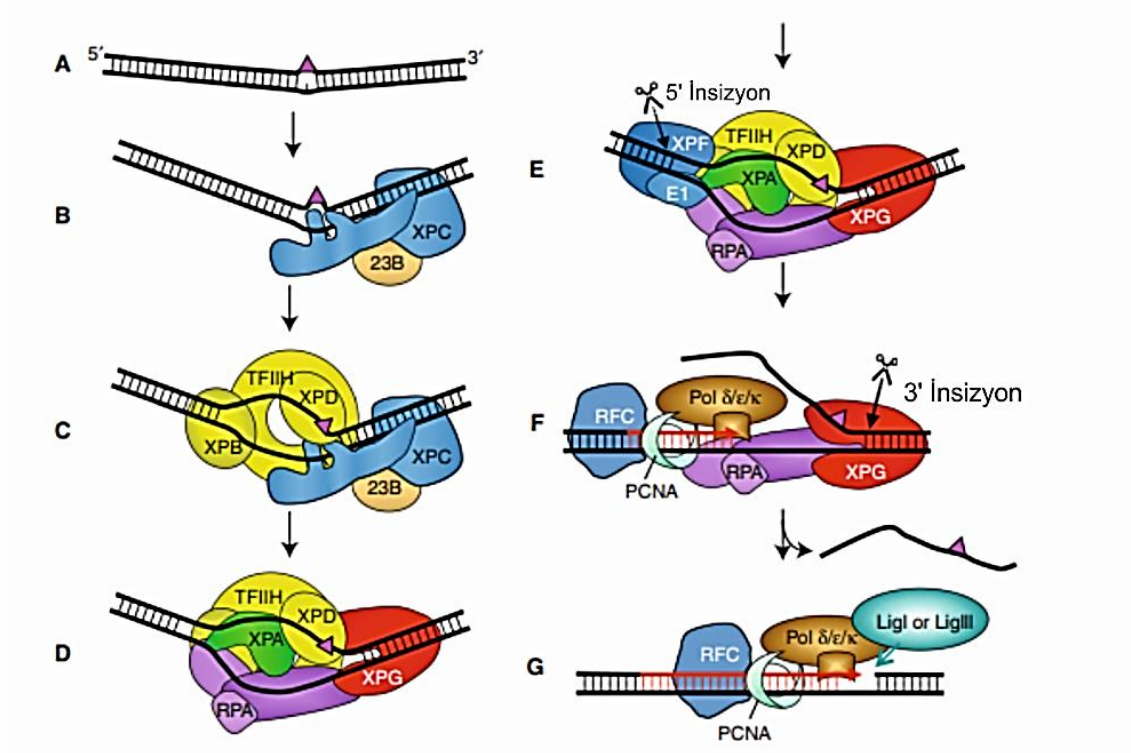


Şekil 2.11. Birleştirilmiş BER modeli.

Bu model, oksidasyon ve alkilasyon baz modifikasyonlarının onarımı için protein komplekslerini tanımlar ve tek zincir kırıklarının onarımını sağlar, NER gibi alternatif alt-yollar aracılığıyla ve bifonksiyonlu DNA glikozilazların NEIL ailesi tarafından başlatılan onarımıyla oksidatif lezyonları düzeltir (Almeida ve Sobol, 2007).

Nükleotit kesip çıkarma onarımı (NER)

NER, ultraviyole (UV) ışınları, benzoapiren katımı veya kimyasal karsinojenler gibi ajanlar tarafından oluşan büyük lezyonların giderilmesinde görevli major bir hücresel DNA onarım yolağıdır. DNA hasarının giderilmemesi, mutajenez, kanser ve hücre ölümüne neden olabilir. NER, lezyonu çift kesiklerin içine alır ve DNA hasarını ortadan kaldırır (Sancar ve Reardon, 2004). NER eksikliği bir dizi nadir görülen genetik geçişli sendromlara neden olur: Deri kanserlerine yatkınlıkla ilişkili olan Xeroderma Pigmentosum (XP) ; Cockayne Sendromu (CS) ; nadiren UV-Duyarlı Sendrom (UV^SS) ; ve Serebro-Oculo-Facio-Skeletal sendromu (COFS). BER'de bazlar tek olarak kesip çıkarılırken NER'de hasarlı bazlar oligonükleotit parçaları olarak kesip çıkarılır (Sancar ve Reardon; Scharer, 2013).



Şekil 2.12. Çekirdek NER reaksiyonu için model.

(A)Hasar verici ajanlar tarafından tetiklenen dubleks DNA'yı destabilize eden Bulky DNA lezyonları. (B) Global genom NER'de, şiddetli derecede bozulan lezyonlar, lezyonun karşısındaki hasarsız diziye bağlayan XPC-RAD23B tarafından tanınır. (C) TFIIH, XPC-RAD23B ile etkileşime girer ve XPD'nin XPB alt birimi ile açık DNA'yı koparır. Zarar ve lezyonun kimyasal modifikasyonunu (bulkiness) doğrular. (D) Lezyondaki XPD'nin duraklaması XPA, RPA ve XPG'nin takviyesiyle pre-insizyon kompleksinin oluşumuna izin verir. Endonükleaz XPG bu noktada bir kesi yapmaz. (E) ERCC1-XPF'nin, kompleksi ile XPA ile etkileşime girerek ortama gelmesi lezyonda 50 insizyon oluşturur. (F) Pol d ve Pol k veya Pol 1 ile diğer ilişkili faktörlerin onarım sentezini başlatmalarının ardından, XPG tarafından 30 insizyon oluşturur. (G) Onarım sentezinin tamamlanması ve DNA ligaz IIIa / XRCC1 veya DNA ligaz I tarafından çentiğin kapatılması ile onarım süreci tamamlanır (Scharer, 2013).

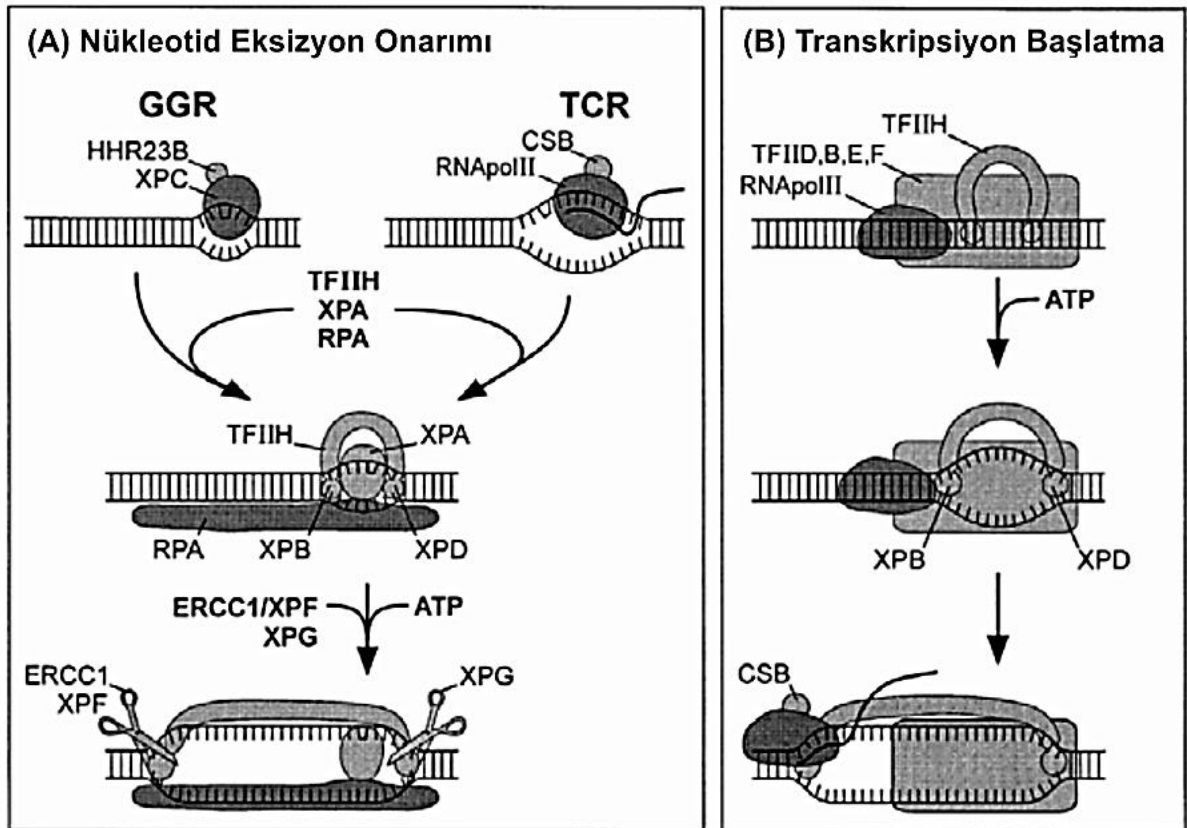
NER'in başlıca iki ana formu vardır:

- Global genom NER (GG-NER)
- Transkripsiyonla bağlantılı NER (TC-NER)

GG-NER mekanizması transkripsiyona bağlı değildir. GG-NER'de ana DNA hasar sensörü, hasarı tanıyan DNA hasar bağı (DDB), hasarı bulan RAD23B (UV kesip-çıkarma onarım proteini Radyasyon duyarlı 23B) proteini ve CETN2 (Centrin 2) ile komplekslenen XPC (Xeroderma Pigmentosum, kompleman grubu C) proteinidir (Nishi ve diğerleri, 2005).

Lezyona bağlanan XPC, bazal transkripsiyon başlatıcı faktörü olan ve NER’de fonksiyonları değiştirebilen on protein alt biriminden oluşan **transkripsiyon initasyon faktör II H (TFIIH)** kompleksi için substrat olur (Yokoi ve diğerleri, 2000). Dual kesip-çıkarma ve boşluk doldurmanın son aşaması, potansiyel olarak yanlış baz eşleşmesi sonucu geçici olarak oluşan single strand DNA(ssDNA) engelinin oluşumunu önlemek için koordine edilir (Mocquet ve diğerleri, 2008). Son aşama olan boşluk onarım sentezi ve ligasyon PCNA (proliferasyon hücre nükleer antijeni), RFC (replikasyon faktör C), DNA polimeraz $\delta/\epsilon/\kappa$, ve LIG1 veya *XRCC1*–LIG3 tarafından gerçekleştirilir (Ogi ve diğerleri, 2010).

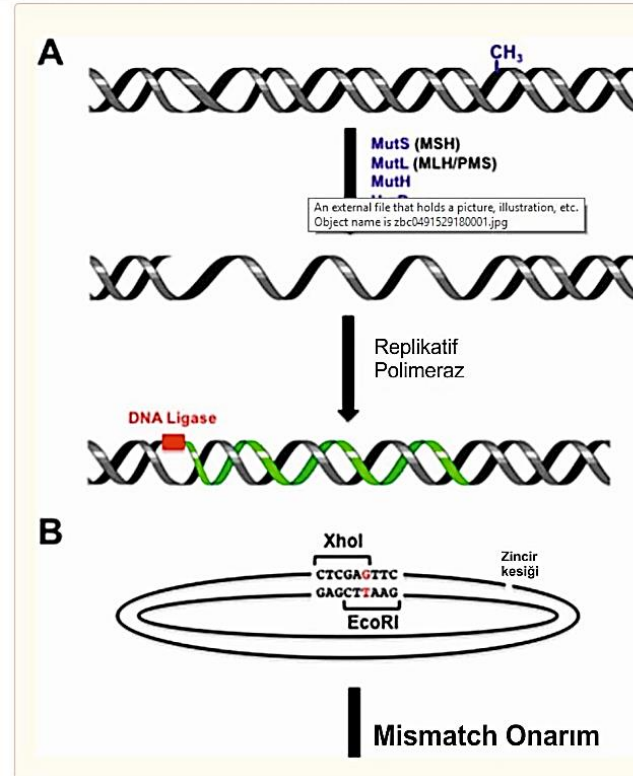
TC-NER’de kesip çıkarma onarım mekanizması daha hızlı çalışır. Bu yolla, transkribe olan DNA, transkribe olmayan DNA’ya göre daha hızlı onarılmakta ve böylece TC-NER’in durmuş transkripsiyonun hücre için öldürücü etkisinden hücreyi koruduğu düşünülmektedir (Sancar ve Kulaksız, 2007). TC-NER mekanizmasında hasarın tanınması hariç diğer basamakların GG-NER ile aynı olduğu düşünülmektedir (Sancar ve Reardon, 2004).



Şekil 2.13. Transkripsiyon ve onarımda TC-NER, GG-NER ve TFIIH’nin rolü (Boer ve Hoeijmakers, 2000).

Mismatch (yanlış eşleşme) onarımı

Mismatch onarımı, replikasyon uyumluluğuna en az 100 kat katkısı olan, evrimsel olarak korunan post replikatif onarım yoludur. Mismatch onarım yolu için tipik substratlar, replikasyon sırasında ortaya çıkan baz uyumsuzlukları ve iplik kayması olaylarından kaynaklanan tekrarlayan DNA sekanslarındaki ekleme-çıkarma döngüleridir (Friedberg ve diğerleri, 2006). Mismatch onarım yolu ayrıca, mikrosatellit stabilitesi, mayotik ve mitotik rekombinasyon, DNA hasarına ait sinyaller, apoptoz, anahtar-kilit rekombinasyonu, somatik hipermutasyonu dâhil olmak üzere çeşitli hücre işlemlerinde de rol oynamaktadır (Chatterjee ve diğerleri, 2016). Mismatch genlerindeki genetik mutasyonlar Lynch sendromuna (aynı zamanda kalıtsal nonpolipoz kolorektal kanser veya HNPCC olarak da bilinir) yol açar, bu da kolon ve yumurtalık kanserlerinin yanı sıra bir dizi başka kansere de ailesel yatkınlık gösterir (Peltomaki, 2001). Son zamanlarda kromatin modifikasyonlarının Mismatch onarım proteinlerinin DNA lezyonuna erişim sağladığı ve onarımı başlattığı görülmüştür (Li, 2014). Bu onarım tipinde hatalı baz eşleşmesinin tanınması önemlidir. Bakterilerde MutS yanlış eşleşmeyi DNA'yı tarayarak algılar. MutS kendisine MutL'nin bağlanmasıyla kararlılık kazanır ve MutH'yi aktive eder. MutH karşı zincirde kesik oluşturur. Kesik oluşumundan sonra helikaz enzimi kesip çıkarma işlemini yapar. DNA polimeraz boşluğu doldurur ve DNA ligaz boşluğu kapatır (Fishel, 2015). Ökaryotlarda bilinen sekiz MSH (MutS homologları) yanlış eşleşmeyi algılar (Sachadyn, 2010).



Şekil 2.14. Mismatch onarımı (Fishel, 2015)

Single nükleotit polimorfizmleri (SNP'ler)

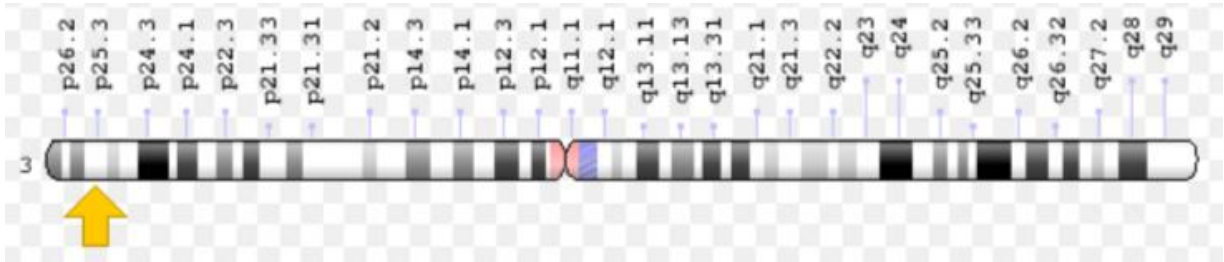
Single nükleotit polimorfizmleri (SNP) insanda çeşitli frekanslarda bulunabilen DNA baz varyantlarıdır. DNA onarım genlerinde oluşan SNP'ler DNA onarım kapasitesinin azalmasına kadar giden polimorfizmlere, bunun sonucunda da artmış mutajenite ve kanser riskine sebep olurlar. Oksidatif DNA hasarının giderilmesinden sorumlu onarım genlerinde oluşabilecek bir polimorfizm hastalık oluşum olasılığını da artıracaktır (Ochiai, 2015).



Şekil 2.15. DNA Onarım Genlerindeki SNP'ler (Norjmaa ve diğerleri, 2016)

2.13. 8-Hidroksiguanin DNA Glikozilaz (*hOGG1*)

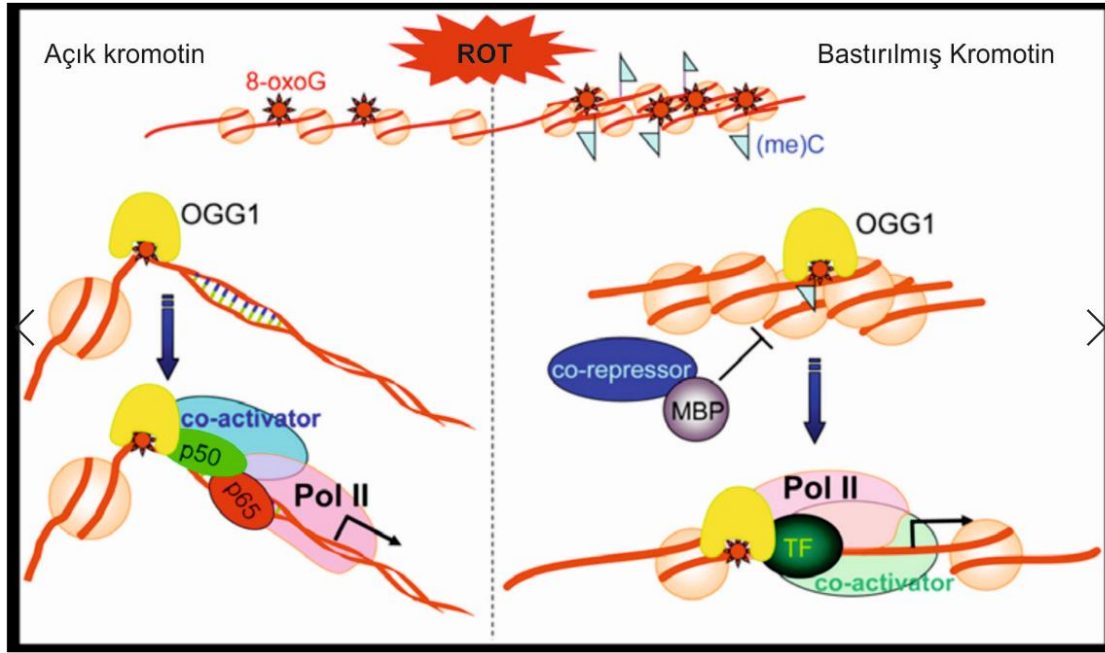
3p25 kromozomunda lokalize olan (Chevillard ve diğeri, 1998) 8-oksoG DNA glikozilaz (*hOGG1*) geni, reaktif oksijen türlerine maruziyet sonucu ortaya çıkan bir mutajenik baz yan ürünü olan 8-oksG'nin kesilip çıkartılmasından sorumlu enzimi kodlar. Bu enzimin hareketi, zincir bölünmesi için liyaz aktivitesini içerir. Bu genin C-terminal bölgesinin alternatif olarak eklenmesi, ekleme varyantlarını, dizinin son ekzonuna bağlı olarak tip 1 ve tip 2 olmak üzere iki ana gruba ayırır (National Center for Biotechnology Information, 2018). *OGG1*'in bu iki major izoformu; *OGG1-1a* nükleusta ve *OGG1-2a* mitokondride bulunur (Nishioka ve diğeri, 1999). Tip 1 alternatif ekleme varyantları ekson 7 ile biterken Tip 2 varyantı ekson 8 ile sonlanır. Tüm varyantlar, mitokondriyal lokalizasyon için gerekli olan mitokondriyal hedefleme sinyali içeren aynı ortak N-terminal bölgesini paylaşır. *OGG1* geni için birçok alternatif ekleme varyantı tarif edilmiştir, ancak her varyant için tam uzunluk belirlenememiştir (National Center for Biotechnology Information, 2018). Parkinsonlu hastalarda özellikle kısa dönem içindekilerde mitokondrideki *OGG1-2a*'nın ekspresyonunda up regülasyon olduğu çeşitli araştırmalarda ortaya konmuştur (Fukae ve diğeri, 2005).



Şekil 2.16. 3.kromozomda *OGG1* genini kodlayan bölge (U.S National Library of Medicine, 2018-1)

Organizmada çeşitli endojen fizyolojik prosesler ve/veya çevresel ajanlar tarafından ROT'un üretimi kaçınılmazdır. ROT'lar hücrel makromoleküllere zarar verirler. Oksidatif hasara uğramış makromoleküllerden proteinler, lipitler ve RNA, degradasyona ve geri dönüşüme uğrasa da genomik stabilitenin devamlılığı için DNA lezyonlarının onarılması gerekmektedir (Radak ve diğeri, 2011; Friedberg, 2015).

Organizmada oksidatif DNA hasarına karşı onarıcı çeşitli mekanizmalar olduğundan bahsetmiştik. DNA baz hasarı (deaminasyon, oksidasyon veya alkilasyon) hem prokaryot hem de ökaryotlarda yüksek oranda korumalı yolak olan ve bugüne kadar tüm DNA onarım yolları arasında en basit prosese sahip olduğuna inanılan (Krokan ve diğerleri, 2013) BER'i de bu mekanizmalar içinde saydık. İnsanda *hOGG1* geni tarafından kodlanan ve DNA onarım enzimlerinden birisi olan *OGG1* enzimi BER'i başlatır (Fukae ve diğerleri, 2005). *OGG1* tarafından başlatılan BER (*OGG1*-BER) DNA onarımı için gerekli lezyon tanıma, *OGG1*'in aktif bölgeleri olan baz bağlama yerlerindeki DNA çift sarmal heliksinden substratı çevirme, DNA yapısındaki bölgeye özgü değişiklikler gibi çoklu adımlara neden olur (Bruner ve diğerleri, 2000).

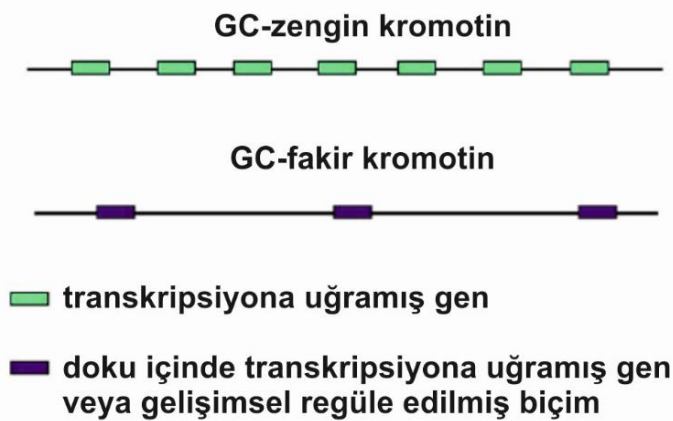


Şekil 2.17. ROT ve *OGG1*'in genomik 8-oksoguanine bağlanması ile gen ekspresyonunun kolaylaşması (Ba ve Boldogh, 2018)

BER, mono veya bifonksiyonlu DNA glikozilazlar tarafından başlatılır ve hasarlanmış bazı glikozilazlarla uzaklaştırılmasından sonra apürinik / aprimidik (AP) bölge prosesleri, nükleotit birleştirme gibi işlemleri APEX1, DNA polimerazı β ve DNA ligaz enzimi ile yürütür (Svilar ve diğerleri, 2011; Almeida ve Sobol, 2007; Akbari ve diğerleri, 2009). Dört DNA bazı arasında G'nin en düşük iyonizasyon potansiyeline sahiptir ve bu nedenle oksidasyona en yatkın olan bazdır (Candeias ve Steenken, 2000). G'nin oksidasyon ürünü 7, 8-dihidro-8-oksoguanin (8-oksoG) de en baskın oksidatiftir (Dizdaroglu, Candeias ve Steenken, 2000).

İlk olarak *Escherichia coli* (E.coli) 'de tespit edilen protein MutM / Fpg'nin analogu olan 8-oksoG DNA glikozilaz 1 (*OGG1*) 'in oksidatif hasar biyobelirtecidir (MutM/Fpg, DNA sarmalından 8-oksoG ve onun açık halka ürünü olan 2, 6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin (FapyG) 'yi atmak için vardır) (Dizdaroglu ve diğeri, 2008; Michaels ve diğeri, 1991).

G' nin hassasiyeti ve 8-oksoG'nin mutajenitesine rağmen insan genomunda GC bakımından zengin bölgelerde gen dansitesi ve heterojenitesi daha büyüktür. İnsan gen promotorlarının %72'si G'ce zengindir. Şaşırtıcı bir şekilde, genlerin transkripsiyon aktivitesi gen düzenleyici bölgelerdeki GC içeriği ile pozitif korelasyon gösterir. Aktif olarak transkripsiyona uğrama eğilimli olan genler yüksek GC içerikli bölgelerde yoğun olarak dağılırken, doku bağımlı veya düzenlenmiş olan genler genellikle GC yönünden fakir bölgelerde seyrek olarak dağılır. Genlerin dağılım şekli ve GC içeriğinin korelasyonu, G oksidasyonunun ve onun aynı kökenli olduğu enzim olan *OGG1*'in gende kullanılabilir olma potansiyeline de işaret eder (Gautier, 2000; Saxonov ve diğeri, 2006).



Şekil 2.18. Transkripsiyonel olarak aktif genler, GC'nin zengin kromatin fraksiyonuna gömülür. Üst panelde aktif veya yapısal olarak transkripsiyona uğramış genler yüksek GC içerikli bölgelerde yoğun olarak dağılır. Alt panelde doku bağımlı veya gelişimsel olarak düzenlenmiş olan genler GC yönünden fakir bölgelerde seyrek olarak dağılır (Ba ve Boldogh, 2018).

Oksidatif hasarlı DNA 'nın en yaygın oksidatif baz modifikasyonlarından biri olan 8-oksoG pre-mutajeniktir, çünkü C yerine A ile eşleşebilir, sonuçta DNA replikasyonu sırasında G:C-T:A oluşumuna neden olur (Radak ve Boldogh, 2010). *OGG1* aracılı BER 8-oksoG'yi çıkarmazsa, replikasyon devam edebilir; ancak G → T mutasyonlarının birikmesine yol açabilir. BER sırasında 8-okso-G lezyonu çıkarıldığında, bir DNA onarım aracı olarak AP alanı kalmaktadır. AP bölgeleri,

DNA'nın ya pürin ya da pirimidininin eksik olduğu bir DNA hasar türüdür. AP bölgeleri, replikasyon ve transkripsiyon sırasında polimerazı bloke edebildikleri için potansiyel olarak sitotoksik veya genotoksiktir. Ek olarak, AP bölgeleri etkin bir şekilde onarılmazsa, mitokondriyal fonksiyonu tehlikeye atabilir ve nörodejenerasyona katkıda bulunabilir (Lauritzen ve diğerleri, 2011). AP bölgeleri kendiliğinden, dışsal stresle veya monofonksiyonlu DNA glikozilazların bir DNA onarım ara maddesi olarak üretildikleri APEX1 tarafından onarılır (Bravard ve diğerleri, 2009).

Polimorfizm ve *OGG1*:

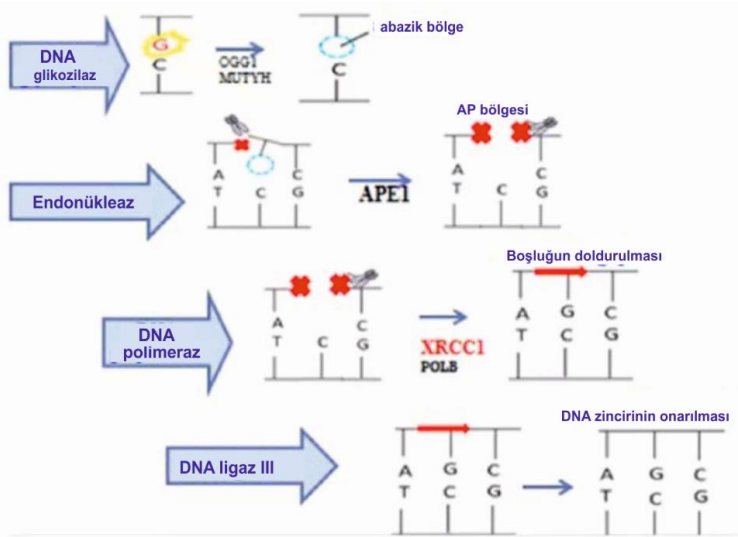
OGG1 geni için en az 20 tane valide edilmiş dizi varyantı vardır. Bunlardan en çok çalışılanı fonksiyonel bir polimorfizm olan 326. kodonda bulunan, *serin* amino asidinin (*Ser*) *sistein* aminoasidine (*Cys*) dönüşmesini sağlayan, rs1052333 olarak da bilinen *Ser326Cys* polimorfizmidir. Bu polimorfizm *OGG1* geninin ekzon 7'sinde 1245. pozisyonunda C'den G'ye transversiyona sebep olur (Bravard ve diğerleri, 2009).

APEX1 ve *OGG1*'deki polimorfizmler, insan hastalıklarında yoğun olarak çalışılmış ve çeşitli kanser türleriyle ilişkileri bulunmuştur (Karahalil ve diğerleri, 2012). Sanders ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma, özellikle AP bölgeleri formundaki mtDNA hasarının, in vivo ve insan postmortem PH'lı beyin dokusunda rotenon maruziyetine sahip nigral nöronlarda biriktiğini göstermiştir (Sanders ve diğerleri, 2014). Bu sonuçlar PH'da etkisiz bir BER cevabı olduğunu düşündürmüştü ve BER'deki yaygın genetik varyantlar bağlamında, pestisit maruziyetinin PH riski oluşturabileceğini araştırmaya götürmüştü. Parakuat ve diğer pestisitlere maruziyet sonucu APEX1 ve *OGG1* genlerinde oluşan tek nükleotit polimorfizminin PH riski araştırılmıştır. Sonuç olarak BER sisteminde genetik olarak saptanmış verimsizliklere sahip bireylerde pestisit maruziyetine bağlı mtDNA hasarının, PH gelişme riskini artıran bir sinerjiyi temsil edebileceği düşünülmektedir (Sanders ve diğerleri, 2017). Başka bir çalışmada *OGG1* varyantına sahip fareler utero metamfetamin (METH) 'e maruz bırakıldığında farelerin beyinlerinde 8-okso-G oluşumunun arttığı ve uzun süreli postnatal motor koordinasyon eksikliğine neden olduğu bulunmuştur (Wong ve diğerleri, 2008).

2.14. X-Ray Çapraz Tamamlayıcı Protein 1 (*XRCC1*)

19q13.31 kromozomunda lokalize olan, X-ray çapraz-tamamlayıcı onarım proteini 1 olarak da bilinen *XRCC1* geni, iyonize radyasyona ve alkilleyici ajanlara maruz kalma sonucu oluşan DNA baz değişimi ve tek zincir kırılmalarının onarımında yer alan enzimi kodlar. Gen 28 farklı intron ve 17 ekzondan oluşur. Bu protein, BER onarım yoluna katılmak için poli adenosin difosfat riboz (ADP-riboz) polimeraz 1 (PARP-1), DNA polimeraz β (POL β) ve DNA ligaz III (LIG3a) ile etkileşime girer (El-Khamisy ve diğerleri, 2003). DNA işleminde, miyojenez ve germ hücrelerinin rekombinasyonu sırasında rol oynayabilir. Transkripsiyonla 15 farklı mRNA, 14 alternatif olarak eklemeli varyant ve 1 eklemesiz formu üretilir (National Center for Biotechnology Information-2, 2018).

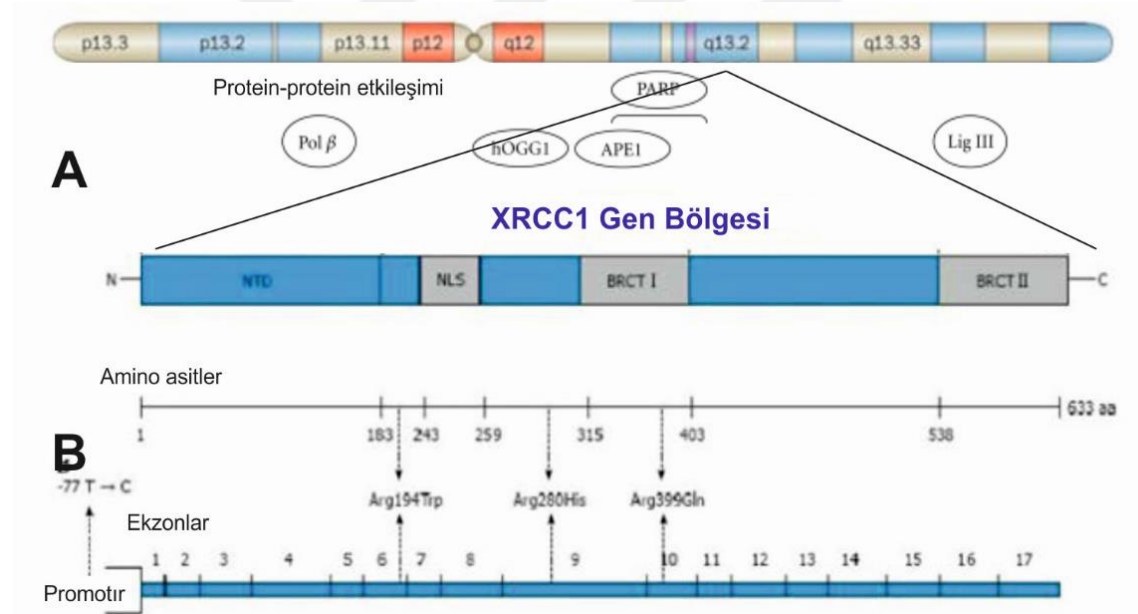
DNA hasarının giderilmesinde en önemli yol olarak kabul ettiğimiz BER, DNA glikozilazın tanınmasıyla başlar. *OGG1*, N-glikozidik bağın parçalanmasını katalize eder ve hasarlı bazın etkin bir şekilde çıkarılmasını sağlar. Böylece AP alanı oluşturur. DNA polimeraz *XRCC1* enzimi bu AP boşluğunu doğru nükleotit ile doldurur. Son olarak, DNA ligaz onarım işlemini tamamlar ve boşluğu kapatarak sarmalın bütünlüğünü yeniden sağlar (Norjmaa ve diğerleri, 2016).



Şekil 2.19. DNA tarafından başlatılan BER yolağı. Buradaki glikozilaz enzimi hasarlı bazı çıkarır ve AP bölgesi oluşturur. AP bölge endonükleaz tarafından temizlenir veya APEX1 DNA'daki fosfodiester bağını koparır. Sonra DNA polimeraz ve *XRCC1* doğru nükleotitle boşluğu doldurur. DNA ligazın yapıştırmasıyla da onarım tamamlanır (Norjmaa ve diğerleri, 2016).

Polimorfizm ve XRCC1

BER'de yer alan DNA hasar onarım proteinlerini kodlayan birçok gen, oldukça polimorfiktir. Bu polimorfizmlerin ilgili protein fonksiyonları üzerinde büyük etkisi vardır ve bunlar neoplastik olaylara karşı bireysel duyarlılığa neden olur. *XRCC1*, genom bakımı için kritik olan BER sisteminde önemli bir rol oynar. *XRCC1*'deki DNA onarım kapasitesinin değişmesine yol açan polimorfizmlerin, kanser riski ve tedavi yanıtı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Ginsberg ve diğerleri, 2011). *XRCC1*'in yaygın olan üç SNP'i vardır: kodon 194, ekson 6'daki genetik varyantı (C> T) ile aminoasit Arg'yi Trp'ye (rs1799782) dönüştürür. Kodon 280, ekzon 9'daki varyantı (G> A) ile, amino asit Arg'yi His'e (rs25489) çevirir. Yine başka bir polimorfizmi de rs25487 olarak da bildiğimiz (G> A) kodon 399, ekzon 10'daki varyantı ile amino asit Arg'yi Gln'ye değiştirir (Sterpone ve Cozzi, 2010).



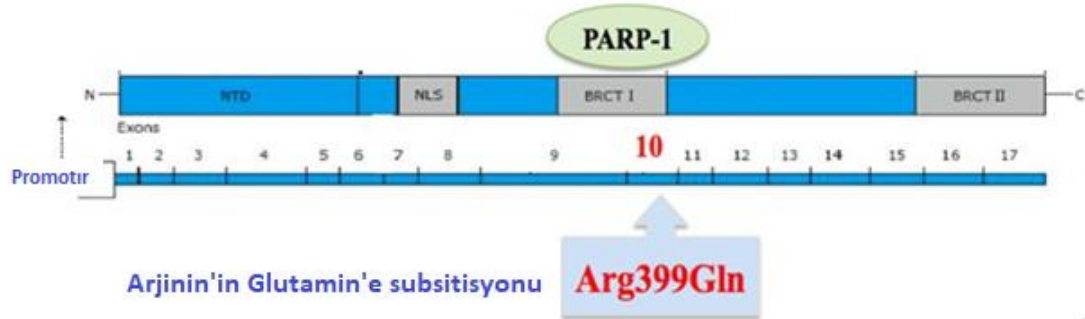
Şekil 2.20. *XRCC1* ve en yaygın polimorfizmleri (NTD:N terminal bölge NLS: Nükleer lokalizasyon belirteci BRCT: BRCA 1 karboksi terminal bölge) (Sterpone ve Cozzi, 2010).

(A) Diyagramı *XRCC1* alanının ve BER'in diğer komponentleriyle olan etkileşim bölgesini gösterir.

(B) Diyagramı *XRCC1*'in çalışılmış en yaygın bilinen single nükleotit polimorfizmlerinin (SNP) yapısını gösterir (Sterpone ve Cozzi, 2010).

XRCC1, iki yaygın polimorfizm olan Arg194Trp ve Arg399Gln'in baş-boyun, özafagus, mide, göğüs, akciğer ve kolon kanseri gibi birçok kanser oluşumu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, bazı araştırmalar *XRCC1 399Gln* alleli olan bireylerde DNA katım ürünleri ve kardeş kromatid değişikliklerinin *XRCC1 Arg399* alleli olan bireylere kıyasla daha yüksek seviyelerde olduğunu göstermiştir. *XRCC1 Arg399Gln* polimorfizmi Arg'den Gln aminoasit değişimine neden olur, bu *XRCC1 Gln / Gln* alleli daha düşük aktiviteye sahiptir ve akciğer ve göğüs kanserleriyle ilişkilidir (Mateuca ve diğerleri; Weng ve diğerleri, 2009).

Exon 10'da olan *XRCC1*'in Arg399Gln polimorfizmi, BRCT terminal bölgesini kodlayan alana PARP-1 bağlanmasını engellemesi açısından önemlidir. Normalde PARP-1 hızla DNA tek zincir kırıklarına bağlanır ve böylece aktive edilir. PARP-1'in aktivasyonu ile hedef proteinlerin ADP-ribozilasyonu hasarlı DNA'da onarım proteinlerinin akümüülasyonuna sebep olur (Seibold ve diğerleri, 2015). (Şekil 2.27 (Norjmaa ve diğerleri, 2016)). Arg'den Gln'ye sübsitisyona sebep olan *XRCC1* BRCT I alanının mutasyonu PARP-1 ile fiziksel etkileşimin azaldığını göstermiştir (Brem ve Hall, 2005).



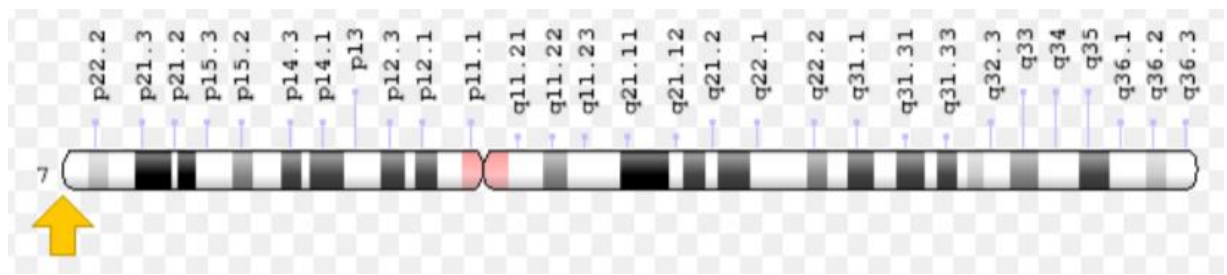
Şekil 2.21 Arg399Gln Polimorfizminin Yapısı (Norjmaa ve diğerleri, 2016)

XRCC1 399 Gln alleli taşıyan bireylerde tütünde bulunan nitrozamin 4- (metilnitrozamino) - 1- (3-piridil) -1-butanol (NNK) 'a maruziyet sonucu kardeş kromatid değişim seviyesi artmıştır. Dahası, yapılan Comet analizinde *XRCC1 399Gln* alleleline sahip sağlıklı çalışanlarda DNA hasarının arttığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar *XRCC1 399 Gln* allelinin DNA onarım kapasitesinde bozulmaya sebep olduğunu göstermiştir (Mateuca ve diğerleri, 2008, Weng ve diğerleri, 2009).

Az sayıda da olsa *XRCC1* ve *XRCC3* genleri üzerinde Parkinson ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış, bu tür DNA onarım mekanizmasındaki genlerin polimorfizminin onarım kapasitesini azaltması nedeniyle Parkinson gibi hastalıkların oluşum riskini artırabileceği savunulmuştur (Kocabas ve Karahalil 2006).

2.15. İnsan Mut T Protein 1 (*hMTH1*)

7p22 kromozomunda lokalize olan (Nakabeppu, 2001) insan NUDIX Hidrolaz 1 (NUDT1) olarak da bildiğimiz insan Mut T Proteinini (*MTH1*) geninin 5 majör ekzonu vardır. Replikasyon ve transkripsiyon sırasında DNA veya RNA'daki okside olmuş nükleozit trifosfatların yanlış birleşmesi, karsinojenez veya nörodejenerasyon ile sonuçlanabilecek mutasyonlara neden olabilir. Bu gen tarafından kodlanan protein, 8-okso-dGTP (8-okso-G), 8-okso-dATP, 2-hidroksi-dATP ve 2-hidroksi rATP gibi oksitlenmiş purin nükleozit trifosfatları monofosfatlara hidrolize eden ve dolayısıyla yanlış bilgi birikimini önleyen bir enzimdir. Kodlanan MTH1 proteinin çoğunluğu sitoplazmada, bir kısmı da mitokondride yer alır ve hem nükleer hem de mitokondriyal genomlar için oluşturulan nükleotit havuzlarının sanitizasyonunda yer alır. Bazıları ayrı ayrı izoformları kodlayan, alternatif olarak birleştirilmiş transkript varyantları tanımlanmıştır (National Center for Biotechnology Information-3, 2018).



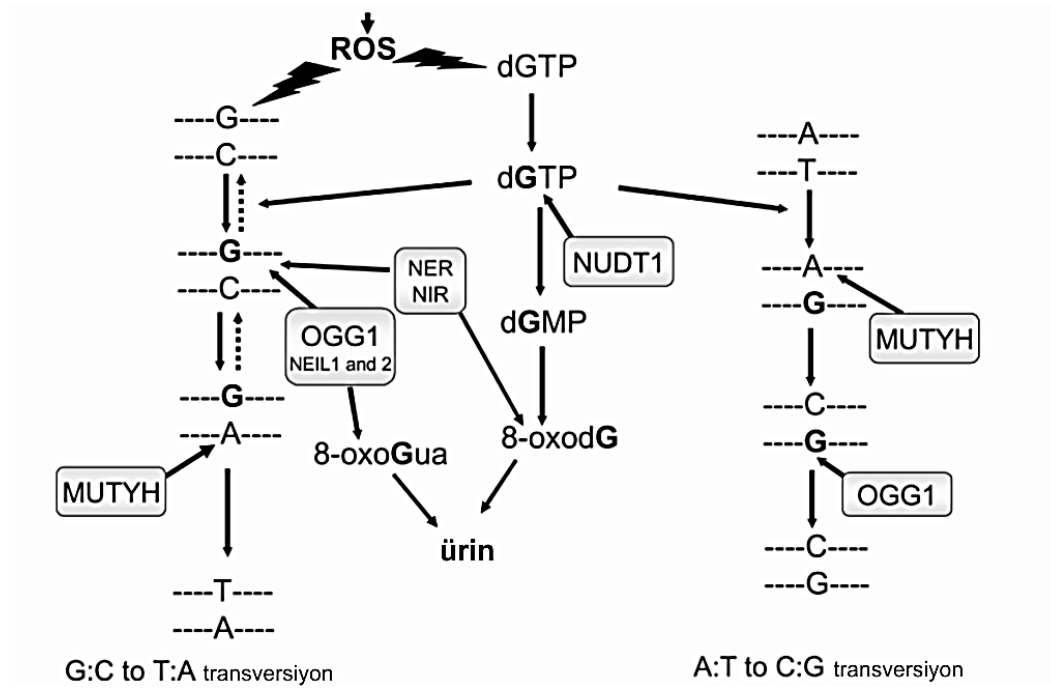
Şekil 2.22. 7. Kromozomda *MTH1* genini kodlayan bölge (U.S National Library of Medicine, 2018-2, 2018)

Hücrelerin normal akışında proteinler, lipitler ve nükleik asitlerin okside olmasıyla hücreler için zararlı ROT'lar sürekli olarak ortaya çıkarlar. Bu oksidatif ürünlere karşı çeşitli koruyucu mekanizmalar vardır. ROT üretimi ile bu koruyucu mekanizmalar arasındaki denge bozulduğunda oksidatif stres artar ve hücreler çok fazla hasar görür. ROT tarafından üretilen oksidatif DNA hasarı mutasyonlara ve kanser de dâhil olmak üzere çeşitli

hastalıklara neden olur. 8-OksoG, oksitlenmiş bir G formudur ve oksidatif DNA hasarının iyi bilinen belirtecidir. A ile temel eşleşme durumu C kadar iyi olduğu için A: T'den C: G'ye veya G: C'den T:A'ya transversiyon mutasyonlarına yol açarak hücrel hasar oluşturur (Radak ve diğerleri, 2011; Friedberg, 2015; Candeias ve Steenken, 2000; Radak ve Boldogh, 2010; Karahalil ve diğerleri, 2011). DNA hasarına karşı organizmalar hata önleme mekanizmaları ile ayrıntılı bir şekilde donatılmıştır. Örneğin *Escherichia coli*'de MutM, MutY ve MutT olmak üzere üç enzim vardır (Maki ve Sekiguchi, 1992). MutM proteini, 8-oksoG'yi çıkarır. MutY proteini DNA'da 8-oksoG ile eşleştirilmiş A'yı çıkarır. MutT proteini DNA'daki 8-okso-dGTP'yi monofosfata hidroliz ederek yanlış bilgi birikimini önler (Michaels ve diğerleri, 1991; Michaels ve diğerleri, 1992; Tchou ve diğerleri, 1991). İnsan hücreleri, *E. coli*'nin mutM, mutY ve mutT genlerinin sırasıyla insan homologları olan *OGG1*, *MYH* ve *MTH1*'e sahiptir (Michaels ve diğerleri, 1991, Michaels ve diğerleri, 1992; Furuichi ve diğerleri, 1994). *hMTH1* proteini pürin nükleozit trifosfatlarından 8-okso-dGTP'nin yanı sıra 2-hidroksi-dATP'yi de hidrolize eder. *hMTH1*'in oksidatif stresin önemli bir belirteci olarak kullanılabileceği düşünülmektedir ve ayrıca oksidatif stres ve genomik instabilite arasındaki ilişkiyi belirlemek için de kullanılabilir (Kennedy ve diğerleri, 1998).

Rodentler üzerine yapılan çalışmalar oksidatif DNA hasarından dopaminerjik nöronları korumak için DNA onarım proteinlerinin önemini açığa çıkarmıştır. Örneğin mitokondriyal solunum sistemini inhibe eden MPTP, Parkinson benzeri semptomları tetikleyebilir. *MTH1* enzimi MPTP maruziyeti sonucu oluşan oksidatif DNA hasarından dopaminerjik nöronları korur (Yamaguchi ve diğerleri, 2006).

radyasyon, hava kirliliği, kimyasallar, mitokondriyal respirasyon, inflamasyon



Şekil 2.23. ROT nedeniyle oluşan G:C'den T:A'ya ve A:T'den C:G'ye transversiyon (Loft ve diğerleri, 2008)

Polimorfizm ve *MTH1*

MTH1'in en yaygın polimorfizmleri; ekzon 3'de 45. kodonda T'den C'ye izolösin (Ile) aminoasidinden treonin (Thr) aminoasidine dönüşüme neden olan Ile45Thr polimorfizmi ile; ekzon 4'de 83. kodonda olan GTG'den ATG'ye valin aminoasidinden metionin aminoasidine dönüşüme neden olan Val83Met polimorfizmleridir (Karahalil ve diğerleri, 2011; Jiang ve diğerleri, 2008). Met83 varyantı termolabildir. Günümüze kadar yapılan sınırlı çalışmalarda *MTH1* Ile45Thr polimorfizmi ile Parkinson arasında olası bağlantı olduğu savunulmuşsa da (Jiang ve diğerleri, 2008) *MTH1* Val83Met polimorfizmi ile sporadik Parkinson arasında ilişki olmadığına dair bir sonuç bulunmuştur (Satoh and Kuroda, 2000).

Nörodejeneratif bir hastalık olan Parkinsonun oluşumunun altında yatan hem genetik hem çevresel patolojik nedenlere bakıldığında BER DNA onarım mekanizmasında bulunan *OGG1*, *XRCC1* ve *MTH1* genlerindeki sırasıyla Ser326Cys, Arg399Gln ve Val83Met polimorfizmlerinin Parkinsonla ilişkili olabileceğine dair şüpheler büyük oranda artmaktadır. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de bu polimorfizmlerle Parkinson

arasındaki ilişkinin değerlendirildiği çalışmaların artması önümüzdeki yıllarda hayat süresinin daha da uzaması nedeniyle daha sık karşılaşacağımız bu nörodejeneratif hastalığa karşı gerekli önlemleri almmamız için fırsat oluşturacaktır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grupları

Çalışma, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinin Nöroloji Anabilim Dalı'na başvuran PH tanısı konmuş 102 hastadan alınmış kan örneklerinden izole edilen DNA örnekleri üzerinde gerçekleştirildi. Kontrol grubunda ise hasta grubu ile cinsiyet ve hayat tarzları ile uyumlu olacak şekilde 97 sağlıklı bireyden alınmış kan örneklerinden izole edilmiş DNA'lar kullanıldı. *OGG1 Ser326Cys*, *XRCC1 Arg399Gln* ve *MTH1 Val83Met* gen polimorfizmleri PCR ve RFLP yöntemi kullanılarak analiz edildi.

Çalışmada değerlendirilecek parametrelerin tespiti amacıyla, hayat tarzlarıyla ilgili çeşitli soruları içeren anket formu tüm hastalara uygulandı. Her hasta için yaş, cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı gibi yaşam tarzlarını kapsayan anketler dolduruldu (Ek 1). Anket kapsamında elde edilen verilerle hastalar "sigara içen-içmeyen", "alkol kullanan-kullanmayan", kahve içme alışkanlığı olan-olmayan, çay içme alışkanlığı olan-olmayan", "diyabet hastalığı olan-olmayan" şeklinde sınıflandırıldı.

3.2. Etik Kurul Onayı

Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 13.6.2016 tarih ve 346 karar numarası ile etik kurul onayı alınmış bir araştırmadır.

3.3. Çalışma Grubundan Biyolojik Materyalin Toplanması ve Saklanması

Biyolojik materyal olarak kullanılan periferik kan örnekleri steril EDTA'lı tüplere alınmıştır. EDTA'lı kan örneklerinden sodyum perklorat / kloroform ekstraksiyon metodu ile DNA izole edilmiştir. EDTA Mg^{+2} bağlayarak DNaz aktivitesini inhibe eder ve DNA'nın stabilizasyonunu sağlar. İzolasyon, lizis işleminden sonra proteinlerin denatürasyonu ve nükleik asitlerin etanol ile çöktürülmesi esasına dayanmaktadır. Kan örnekleri analiz gününe kadar $-80^{\circ}C$ 'de saklanmıştır.

DNA örneklerinde;

- DNA izolasyonu
- *hOGG1 Ser326Cys* genotiplemesi
- *XRCC1 Arg399Gln* genotiplemesi
- *MTH1 Val83Met* genotiplemesi

yapıldı.

3.4. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılarak hücresel materyallerden DNA'nın saflaştırılması işlemidir. Yetişkin periferel kan lökositleri gibi nükleusu olan tüm hücreler bu tür analizlerde kullanılan en basit DNA kaynaklarıdır.

3.4.1. DNA izolasyonunda kullanılan araç ve gereçler

Otoklav (Nüve)

Mikrosantrifüj (Spectrofuge 24D-Labnet)

Santrifüj (Nüve)

EDTA'lı steril vakumlu kan tüpü (Greiner)

Ağızı vidalı ependorf tüpü (Greiner)

Terazi (Sartorius BA 610)

Karıştırıcı (FALC)

Manyetik karıştırıcı (Nüve)

pHmetre (Sartorius)

Derin Dondurucu(-80 °C) (Forma 88000 series)

Vortex (Nüve)

Etüv (Nüve EN 400)

Derin dondurucu (-20 °C) (Arçelik)

Buzdolabı (Arçelik)

Mikropipetler (0.1-5000 µl) (Socorex)

Steril Bioloop (Looplast)

Steril DNA saklama tüpü (Corning)

Falkon tüpü (Greiner)
Su banyosu (Nuve BM 102)
Kromozom tüpü (Greiner)
Plastik Pastör pipeti (Greiner)
Mikropipetler
Mavi, beyaz ve sarı mikropipet uçları

3.4.2. DNA izolasyonunda kullanılan kimyasal maddeler

Triton X-100 (Sigma, X-100)
Trizma Baz (Sigma, T-1503)
Sukroz (Sigma, S-1513)
Magnezyum klorür (Sigma, M-9272)
Steril mikrobiyolojik grade su (ApliChem)
Sodyum hipoklorit (Yerli)
Etilendiamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Sigma ED2SS)
Etanol (mutlak) (Merck)
Sodyum klorür (Merck)
Sodyum dodesil sülfat (Sigma, L-4509)
Sodyum Perklorat (Sigma, S-1513)
Kloroform (Merck)

3.4.3. DNA İzolasyonunda Gerekli çözeltiler

1M Tris HCl çözeltisi: 12,1 g Trizma Baz tartılır, 80 ml'ye distile su ile tamamlandı. Derişik HCl ile çözeltinin pH'sı 8'e ayarlandıktan sonra, son hacim 100 ml'ye getirildi.

Lizis Tamponu (Reaktif A) : 109,5 g. sukroz ve 1,0 g magnezyum klorür tartıldı ve 800 ml distile suda çözüldü. Üzerine 10 ml 1M Tris HCL çözeltisi ilave edildi ve 1000 ml'ye distile su ile tamamlandı. Otoklavda sterilize edildi ve sıcakken 10 ml Triton X-100 çözeltisi eklenerek çözelti berraklaşıp soğuyunca +4 °C'de saklandı.

Reaktif B: 48,5 g Trizma Baz, 22,3 g EDTA ve 8,8 g NaCl tartılır, distile suda çözülerek 800 ml'ye tamamlandı. Derişik HCl ile çözeltinin pH'sı 8'e ayarlandı ve distile su ile 1000 ml'ye

tamamlandı. Çözelti otoklavda sterilize edilir ve sıcakken 10 g. SDS (sodyumdodesilsülfat) eklenerek çözüldü. Çözelti soğuyunca +4 °C'de saklandı.

5M Sodyum Perklorat: 70,2 g. sodyum perklorat tartılır, distile suda çözülerek 100 ml'ye tamamlandı.

10 x Tris –Borat-EDTA Tamponu (TBE) : 108 g. Tris, 55 g. borik asit, 9,3 g EDTA 800 ml distile suda çözüldü. Çözeltinin pH'sı 8,3'e HCl ile ayarlandıktan sonra 1000 ml'ye tamamlandı. Otoklavda sterilize edildi.

Tıbbi Biyoloji laboratuvarında yaygın olarak kullanılan amonyum asetat yöntemi ile DNA izolasyonu aşağıda açıklanmıştır:

- 5-10 ml kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınır. Kan örnekleri izolasyon yapılıncaya kadar -80 °C'de saklanır.
- Her birey için bir falkon tüpü kullanılır.
- Her falkona 35 ml. soğuk Lizis tamponu (Reajan A çözeltisi) ilave edilir.
- Kan örnekleri falkonlara boşaltılır. Tüpler alt üst edilir.
- 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edilir.
- Bu arada kromozom tüplerine 0,5 ml. 5M Sodyumperklorat çözeltisi koyulur.
- Santrifüjden çıkartılan falkonların süpernatantları dikkatlice (dipteki pelletlere dikkat ederek) çamaşır suyu dolu behere boşaltılır.
- Pelletlerin üzerine pastör pipeti yardımıyla yaklaşık 20ml. Reajan B çözeltisinden ilave edilir.
- Falkondaki Reajan B'li pellet, sodyumperklorat içeren kromozom tüplerinin üzerine aktarılır.
- 15 dakika el ile alt üst edilir.
- 65 °C'de 30 dakika etüv içinde inkübe edilir.
- Etüvden alınan tüplere 2 ml soğuk kloroformdan ilave edilir.
- 10 dakika alt üst edilir.
- 10 dakika 1400 rpm'de (18 °C) santrifüj edilir.
- Üst fazın tamamı yeni kromozom tüplerine aktarılır.

- Yeni tüpe aktarılan süpernatantların üzerine 5 ml, soğuk etanol ilave edilir.
- Etanollü tüpler iyice alt üst edilerek, DNA sarmalının oluşumu gözlenir.
- Steril çubuk yardımıyla oluşan DNA sarmalı alınır. Kuruması için ependorfa aktarılarak 5-10 dakika bekletilir.
- Kuruyan DNA'lar steril çubukların ucu kesilerek ependorfların içine aktarılır.
- DNA 'nin büyüklüğüne göre 200 / 300 ml steril distile su ilave edilir.
- 60 °C'de, 1 gece su banyosunda inkübe edilir.
- Çözünen DNA'lar 4 °C'de saklanır.

Hastalar ve kontrol gruplarından elde edilen DNA'lar kullanılarak *hOGG1 Ser326Cys*, *XRCC1 Arg399Gln* ve *hMTH1 Val83Met* genlerine ait genotiplleme yapıldı. Her DNA'dan genotiplmesi yapılacak enzimi kodlayan bölgeler polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) aracılığıyla çoğaltıldı ve restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (RFLP) tekniğiyle deneye katılan hasta ve kontrol grubundaki her bireyin çalışılan her genine ait genotiplleme yapıldı.

3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi-Restriction Fragment Length Polimorfizmi (RFLP)

PCR metodu bir çeşit " klonlama" ya da bir in vitro ve in vivo DNA amplifikasyon tekniği olarak tanımlanır. Teorik olarak 1971'de Keppe ve arkadaşları tarafından ana hatlarıyla çizilmişse de 1985'de Kary Mullis tarafından uygulanmıştır. Çalışma prensibi; şablon olarak kullanılan az miktarda başlangıç DNA tek zincirinden tamamlayıcı yeni zincirin sentezi için DNA polimerazdan faydalanmaya dayanır. Başka bir ifadeyle az miktarda başlangıç materyali olan DNA şablonu veya hedef diziden belirli bir DNA segmentinin (amplikon) bol miktarda tedarik edildiği güçlü bir amplifikasyon tekniğidir (Lorenz, 2012). Reaksiyonlar farklı sıcaklıklardaki üç olayın sikluslar halinde tekrarı şeklindedir. PCR ile DNA fragmanları çoğaltılabilir ve çok küçük örneklerden analizler için yeterli miktarlar elde edilebilir (Polymerase Chain Reaction, 2018).

RFLP yöntemi, DNA molekülünün kesim enzimleri olan restriksiyon endonükleaz enzimleri kullanılarak farklı büyüklükteki fragmanlara ayrılması ve elde edilen DNA fragmanlarının jel elektroforez tekniği ile görüntülenmesi işlemine dayanır (Klug ve diğerleri, 2011). PCR yöntemi ile çoğaltılmış bölgede araştırdığımız polimorfizmlerin belirlenebilmesi için RFLP

yöntemi kullanılır. Polimorfizmler enzimin kesme noktasını değiştirebilirler veya tamamen yok edebilirler. PCR ile klonlanmış DNA molekülü içeren karışıma restriksiyon enzimleri eklenerek DNA dizisinin küçük restriksiyon fragmanlarına ayrılması sağlanır ve elde edilen bu fragmanlar jel elektroforezi ile büyüklüklerine göre ayrıştırılır. Jelde görüntülenen bantların sayısı ve uzunluklarına göre çeşitli teorik modeller oluşturulur. Bu modeller oluşturulurken klonlanmış DNA molekülü restriksiyon enzimleri ile kesilmesi ve kesim sonuçlarına göre tahmini fragmanların büyüklükleri ile jelde görüntülenen fragmanların büyüklüklerinin karşılaştırılması esasına dayanır. Böylece harita boyunca farklı uzunluklara sahip DNA fragmanlarının arasındaki uzaklıklar ölçülebilir (Allison, 2014).

3.5.2. Polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon fragman uzunluk polimorfizminde kullanılan araç ve gereçler

Mikrosantrifüj(Labnet,Spectrafuge24D)

Mikrodalga Fırın(White Westinghouse)

Derin dondurucu (-20°C)(Arçelik)

Jel kalıbı ve tarakları

Vorteks (Nüve)

Mikropipet (0,1-1000 µl) (Socorex)

Elektroforez tankı (Maxicell Primo)

Elektroforez güç kaynağı (Thermo)

Görüntüleme sistemi (Syngene)

Etüv (Nüve EN 400)

PCR Aleti (Thermal Cyclers-Techne)

3.5.1. PCR'ın bileşenleri

DNA şablonu (kalıp olarak kullanılacak DNA)

Hedef diziyi içeren DNA örneğidir. Reaksiyonun başlangıcında, çift zincirli DNA molekülündeki zincirleri birbirinden ayırmak için yüksek ısı uygulanır.

DNA polimeraz

Hedef dizi için tamamlayıcı yeni DNA iplikçiklerini sentezleyen enzim türü. İlk ve en yaygın olarak Taq DNA polimerazı kullanılmıştır. Pfu DNA polimerazı da DNA kopyalanması sırasında daha yüksek uygunluğa sahip olduğu için kullanılmaktadır.

Primerler

DNA şablonu ve primerler hedef dizilimi tamamlayıcı tek zincirin parçalarıdır (Polymerase Chain Reaction, 2018). İki tane tek iplikli sentetik DNA oligonükleotidi (ileri ve geri primerler), PCR yapılmak istenen gen dizisini belirler.

Nükleotitler (dNTPler veya deoksinükleotit Trifosfatlar)

4 tip nükleotit trifosfat (Principle of the PCR 1999, 2018): dATP, dGTP, dTTP, dCTP

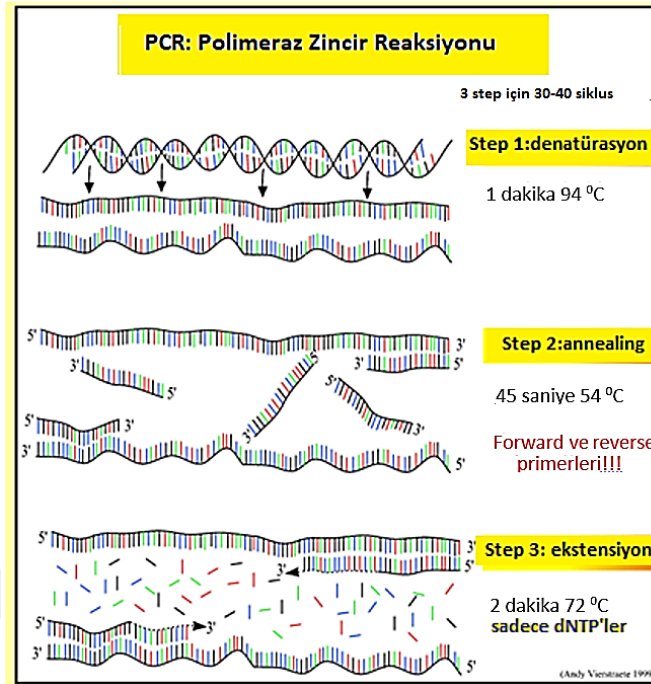
PCR üç ana siklusun tekrarlarından meydana gelir:

Denatürasyon; 94 °C'de çift iplikçikli DNA'nın iki tek iplikçiğe ayrılması;

Annealing (eşleşme) ; 50-60 °C'de primerlerin tek iplikçik halindeki kalıp DNA'ya spesifik olarak bağlanmaları;

Ekstension (uzama) ; 72°C'de, primerlerle tanımlanmış olan bölgenin Taq polimeraz tarafından DNA amplifikasyonu (Lodish ve diğerleri, 2000).

Denatürasyon ve ekstension sikluslarındaki ısılar değişmezken eşleşme ısısı istenen DNA dizisinin AT/GC içeriğine göre değişir. Sikluslar 30-40 tekrar arasında değişir. Her siklуста çoğaltılmak istenen dizinin logaritmik (2^n , $n=30-35$ döngü) artışı söz konusudur ve yeni sentezlenen fragmanlar bir sonraki siklуста kalıp görevi görürler (Lorenz, 2012).



Şekil 3.1. PCR'ın basamakları (Principle of the PCR 1999, 2018)

3.5.3. Polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon fragman uzunluk polimorfizminde kullanılan kimyasal maddeler

dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)	Fermentas
MgCl ₂	Fermentas
<i>hOGG1</i> R primeri	lontek
<i>hOGG1</i> F primeri	lontek
<i>hXRCC1</i> R primeri	Thermo Electron
<i>hXRCC1</i> F primeri	Thermo Electron
<i>hMTH1</i> R primeri	Thermo Electron
<i>hMTH1</i> F primeri	Thermo Electron
<i>Taq</i> DNA polimeraz	Fermentas
10x <i>Taq</i> tamponu (NH ₄)	Fermentas
Sat I (Fnu4HI)	Fermentas
MSPI (HpaII)	Thermo Scientific
NSi (mpH)	Thermo Scientific
Steril su	AppliChem

3.5.4. Elektroforezde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

10 x Tris-Borat-EDTA Tamponu (TBE)

108 g Tris, 55 g borik asit, 9,3 g EDTA 800 ml distile suda çözüldü. Çözeltinin pH'sı hidroklorik asit ile 8,3'e ayarlandıktan sonra 1000 ml'ye tamamlandı. Otoklavda sterilize edildi.

1 x Tris-Borat-EDTA Tamponu (TBE)

1 x TBE elde etmek için 100 ml 10 x TBE tamponu distile suyla 1000 ml. ye tamamlandı.

%2'lik Agar Jel

Balon joje içine 2 g. agar jel tartılıp 100 ml 1xTBE ilave edilir. Karışım mikro dalgada kontrollü şekilde jel kıvamına gelinceye kadar (orta derece ısıda yaklaşık 5 dk.) kaynatıldı. Süre sonunda karışım jel kabına dökülerek 25 dk soğumaya bırakıldı.

100 bç DNA ladder (moleküler ağırlık merdiveni)

2 µl DNA moleküler ağırlık merdiveni

1 µl 6x yükleme boyası (loading dye)

3 µl steril su

oranlarında çoğaltılarak karıştırıldı.

Etidium Bromür (EtBr)

500 mg. EtBr yeterli miktar distile suyla 50 ml. ye tamamlandı. EtBr, PCR ürünlerini okumak için koyduğumuz jeli parlaklaştırır.

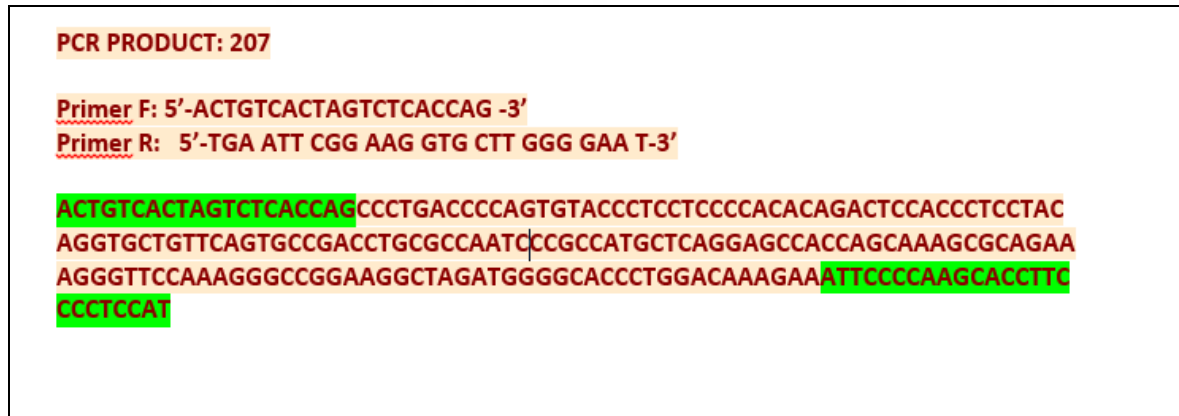
dNTP

1'er birim dATP, dCTP, dGTP, TTP nükleotitleri 6 birim distile suyla karıştırılarak hazırlandı.

3.5.5. Polimeraz zincir reaksiyonu ile DNA fragmanlarının çoğaltılması

hOGG1 Ser326Cys polimorfizmi

hOGG1 Ser326Cys polimorfizmi için; 0,2 mM dNTP, 2 mM MgCl₂; 0,6 pmol primer F ve R uygun primer çiftlerinin her birinden; 1 Unite *Taq* polimeraz ve 10xTaq buffer (NH₄)₂SO₄ içeren 15 µl'lik polimeraz zincir reaksiyonu içine yaklaşık 100 ng genomik DNA eklendi. PCR tüpleri 94 °C'de 2 dakika inkübe edilerek DNA'nın denatüre olması sağlandı. 33 döngü boyunca 94 °C'de 15 saniye denatürasyon, 60 °C eşleşme sıcaklığında 30 saniye oligonükleotit primerler ile birleşme ve 72 °C'de 35 saniye uzama gerçekleştirildi. Döngüler tamamlandıktan sonra 72 °C'de 10 dakika son uzama gerçekleştirildi. Şekil 3.2 'de *hOGG1 Ser326Cys* enzimini kodlayan bölgeler gösterilmiştir.

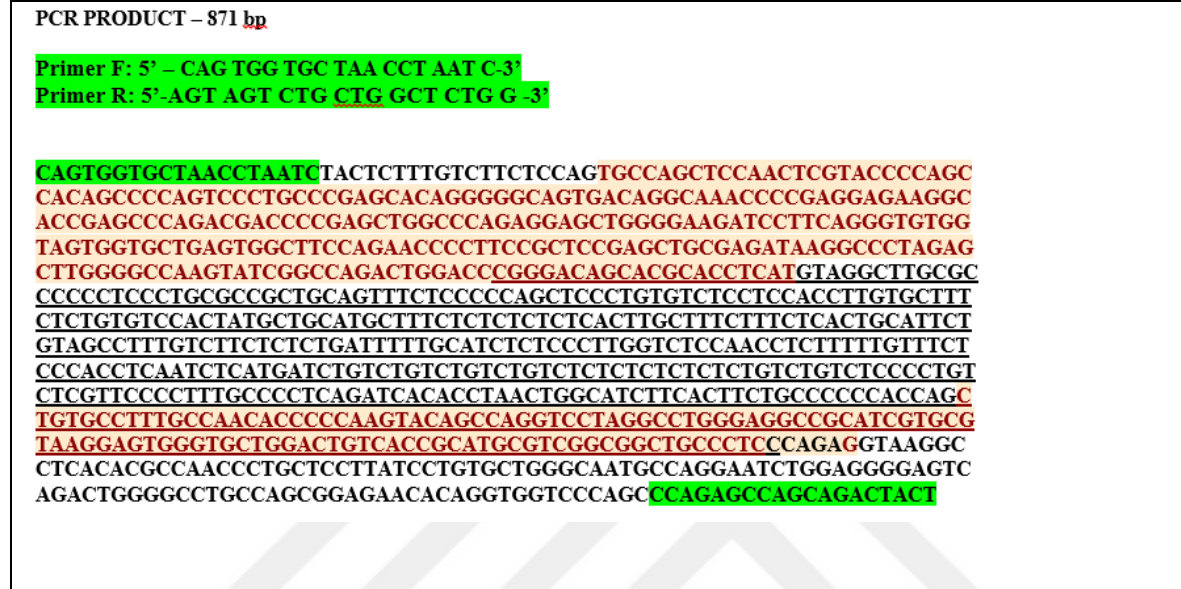


Şekil 3.2. 3p25. kromozomda *OGG1*'in PCR ile çoğaltılan gen sekansı, PCR ürün boyutu ve primer dizileri

XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi

XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi için 2 Mm MgCl₂; 0,3 mM deoksi nükleotit trifosfatların her birinden konulmuş hazır karışım deoksi nükleotit trifosfat (dNTP) ; 0,6 pmol primer F ve R uygun primer çiftlerinin her birinden; 1 Unite *Taq* polimeraz içeren 15 µl'lik polimeraz zincir reaksiyonu içine yaklaşık 50 ng DNA eklendi. PCR tüpleri 94 °C'de 2 dakika inkübe edilerek

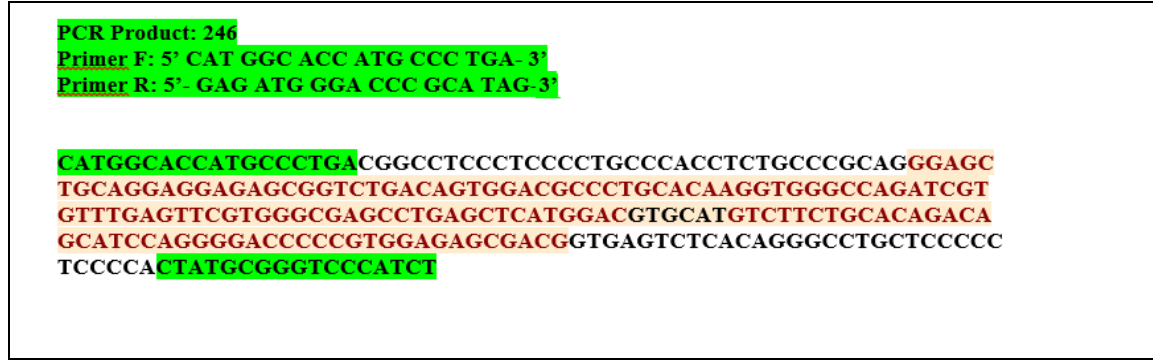
DNA'nın denatüre olması sağlandı. 35 döngü boyunca 94 °C'de 30 saniye denatürasyon, 58 °C birleşme sıcaklığında 45 saniye oligonükleotit primerler ile eşleşme ve 72 °C'de 1 dakika uzama gerçekleştirildi. Döngüler tamamlandıktan sonra 72 °C'de 7 dakika son uzama gerçekleştirildi. Şekil 3.3 'de *XRCC1 Arg399Gln* enzimini kodlayan bölgeler gösterildi.



Şekil 3.3. 19q13.31. kromozomda *XRCC1*'in PCR ile çoğaltılan gen sekansı,PCR ürün boyutu ve primer dizileri

hMTH1 Val83Met polimorfizmi

hMTH1 Val83Met polimorfizmi için 1,5 Mm MgCl₂; 0,2 mM deoksi nükleotit trifosfat (dNTP); 0,6 pmol primer F ve R uygun primer çiftlerinin her birinden; 1 ünite Taq polimeraz 15 µl'lik polimeraz zincir reaksiyonu içine yaklaşık 200 ng DNA eklendi. PCR tüpleri 94 °C'de 5 dakika inkübe edilerek DNA'nın denatüre olması sağlandı. 35 döngü boyunca 94 °C'de 90 saniye denatürasyon, 58 °C eşleşme sıcaklığında 60 saniye oligonükleotit primerler ile birleşme ve 72 °C'de 60 saniye uzama gerçekleştirildi. Döngüler tamamlandıktan sonra 72 °C'de 7 dakika son uzama gerçekleştirildi. Şekil 3.4 'de *hMTH1 Val83Met* enzimini kodlayan bölgeler gösterilmiştir.



Şekil 3.4. 7p22. kromozomda *MTH1*'in PCR ile çoğaltılan gen sekansı, PCR ürün boyutu ve primer dizileri

3.5.6. Polimeraz zincir reaksiyonu ürünlerinin jele uygulanması ve elektroforez

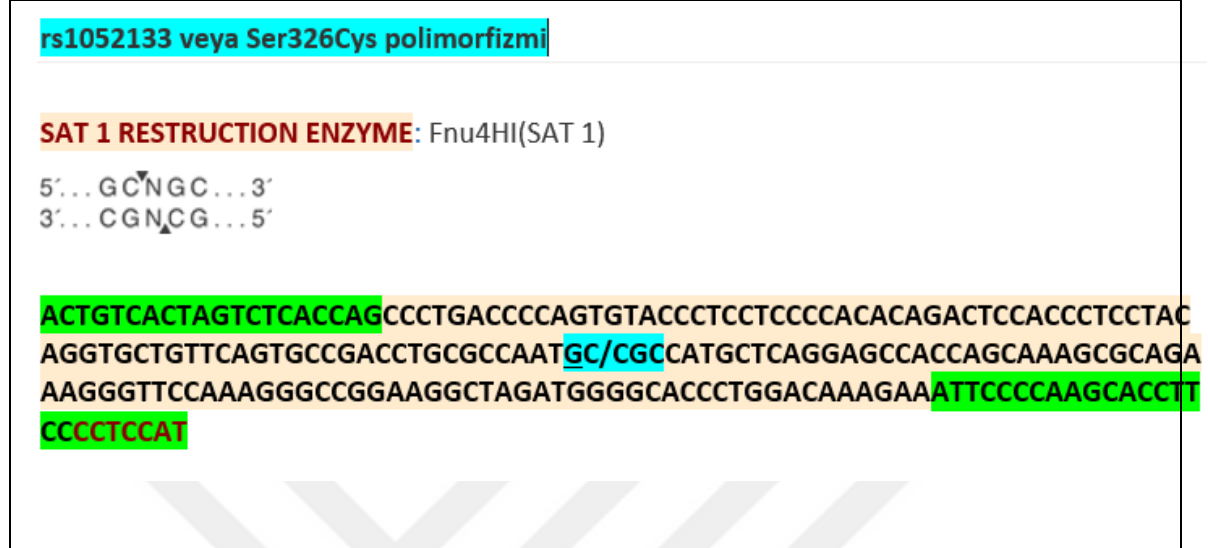
PCR ile elde edilen ürünlerin başarılı bir şekilde amplifiye olup olmadığını anlamak için %2 (a/h) agaroz jel elektroforezi kullanıldı. Örnekler agarozların tarak dişleriyle oluşan boşluklara pipetaj yöntemiyle uygulandı. Mikrotiter içindeki her bir deliğe her örnek için 3 µl yükleme tamponu, üzerine de PCR ürününden 5 µl ilave edilerek, pipetaj ile karıştırıldı. Elektroforez tankı yeter miktar 1XTBE tamponu ile dolduruldu ve 150 volt/cm büyüklüğündeki elektrik alanında 20-24 dakika yürütüldü. Elektroforezde PCR ürünlerinin jelde yürürken izlenmesi için 6x yükleme boyası ve moleküler ağırlık standartı olarak 100 bç ya da 50 bç'lik merdiven moleküler ağırlık standartı kullanıldı. Elektroforezin ardından jeller %0,0001 µg (a/h) konsantrasyonunda hazırlanmış etidium bromür çözeltisinde 10-15 dakika bekletildi. Ardından jeller 300 nm bant geçirgen filtreli mor ötesi transillüminatör kullanılarak görüntülendi. İşlem sonunda amplifiye edilen *OGG1 Ser326Cys* geni için spesifik 207 bç'lik bant, *XRCC1 Arg399Gln* geni için spesifik 871 bç'lik bant, *MTH1 Val83Met* geni için spesifik 247 bç'lik bant UV-transillüminatörde kontrol edildi.

3.5.7. Gen polimorfizmlerinin kesim ve inkübasyonları

hOGG1 Ser326Cys polimorfizminin Sat1 enzimi ile kesimi

hOGG1 Ser326Cys enzim genotiplemesi için elde edilen 5 µl PCR ürünü, 9 µl steril su, 2 µl tampon G ve 0,08 µl Sat I kesim enzimi ile yaklaşık 16 saat, 37 °C'de inkübe edildi (Karahalil ve Kocabaş, 2005). Bu süre sonunda kesilen ürünler, aynen PCR ürünlerini jele uygulayıp

elektroforezde sürüklediğimiz şekilde jele tatbik edilip 25 dakika, 120 V akım varlığında elektroforeze tabi tutulup UV transillüminatör'de incelenerek genotip analizi yapıldı.



Şekil 3.5. Sat I restriksiyon enzimi uygulanan 207 bç'lik gen sekansı (*OGG1*-F ve *OGG1*-R primerleri yeşil renk ve kesim enziminin tanıma bölgesi mavi renk ile gösterilmiştir)

XRCC1 Arg399Gln polimorfizminin MspI (HpaII) enzimi ile kesimi

XRCC1 Arg399Gln enzim genotipleme için elde edilen 5 µl PCR ürünü, 9 µl steril su, 1 µl tampon tango ve 0,5 µl Sat I kesim enzimi ile yaklaşık 16 saat, 37 °C'de inkübe edildi (Kocabas ve Karahalil 2006). Bu süre sonunda kesilen ürünler, aynen PCR ürünlerini jele uygulayıp elektroforezde sürüklediğimiz şekilde jele tatbik edilip 25 dakika, 120 V akım varlığında elektroforeze tabi tutulup UV transillüminatörde incelenerek genotip analizi yapıldı.



Şekil 3.6. Mspl restriksiyon enzimi uygulanan 871 bç'lik gen sekansı (*XRCC1*-F ve *XRCC1*-R primerleri yeşil renk, kesim enziminin tanıma bölgesi mavi ve pembe renk ile gösterilmiştir)

MTH1 Val83Met polimorfizminin NSi (mpH) enzimi ile kesimi

MTH1 Val83Met enzim genotiplemesi için elde edilen 5 µl PCR ürünü, 9 µl steril su, 1 µl buffer R ve 0,5 µl NSi kesim enzimi ile yaklaşık 16 saat, 37 °C'de, 10,5 µl reaksiyon karışımında kesildi (Karahalil ve diğerleri, 2011). Bu süre sonunda kesilen ürünler, aynen PCR ürünlerini jele uygulayıp elektoroforezde sürüklediğimiz şekilde jele tatbik edilip 25 dakika, 120 V akım varlığında elektroforeze tabi tutulup UV transillüminatörde incelenerek genotip analizi yapıldı.

rs 4866 veya Val83Met polimorfizmi

CATGGCACCATGCCCTGACGGCCTCCCTCCCCTGCCACCTCTGCCCCGAGGGAGC
 TGCAGGAGGAGAGCGGTCTGACAGTGGACGCCCTGCACAAGGTGGGCCAGATCGT
 GTTTGAGTTCGTGGGCGAGCCTGAGCTCATGGACGTGCATGTCTTCTGCACAGACA
 GCATCCAGGGGACCCCGTGGAGAGCGACGGTGAGTCTCACAGGGCCTGCTCCCC
 TCCCCA CTATGCGGGTCCCATCT

Kesim Enzimi: NSII

5'...ATGCAT...3'
 3'...TACGTA...5'

Şekil 3.7. NSI restriksiyon enzimi uygulanan 247 bç'lik gen sekansı (*MTH1-F* ve *MTH1-R* primerleri yeşil renk ve kesim enziminin tanıma bölgesi kırmızı renk ile gösterilmiştir)

3.6. İstatiksel Analiz

Sürekli sayısal değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Kolmogorov Smirnov testiyle varyansların homojenliği ise Levene testiyle araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler; sürekli sayısal değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma biçiminde, kategorik değişkenler için ise birey sayısı ve (%) şeklinde gösterildi.

Kontrol grubu içerisinde *OGG1*, *XRCC1* ve *MTH1* bölgelerine göre genotip dağılımları açısından Hardy-Weinberg dengesinin sağlanıp sağlanmadığı Ki-Kare testi kullanılarak araştırıldı. Gözlenen frekanslar ile beklenen frekanslar arasındaki farkların önemlilikleri incelendi.

Kontrol ve Parkinson grubu arasında yaş ortalamaları yönünden farkın önemliliği Student's t testi ile incelendi. Kontrol ve Parkinson grubu arasında bireylerin sınıflandırılmış demografik ve klinik özellikleri yönünden 2x2'lik çapraz tablolarda beklenen frekansın 5'in altında olduğu durumunda Fisher'in Kesin Sonuçlu Olasılık testi, 5-25 arasında olması halinde Süreklilik Düzeltmeli Ki-Kare testi, 25'ten büyük olması durumunda ise Pearson'un Ki-Kare testi kullanılarak kategorik veriler değerlendirildi.

OGG1, *XRCC1* ve *MTH1* bölgelerine göre genotip ve allel tiplerinin Parkinson yatkinlığı üzerine anlamlı etkisinin olup olmadığı tek değişkenli lojistik regresyon analizleri ile araştırıldı. Her bir referans allel ve genotipe göre riskli olduğu düşünülen allel ve genotiplerin PH'ya olan yatkinlığı ne kadar etkilediğini tespit etmek için odds oranları ve %95 güven aralıkları ayrıca hesaplandı.

Diğer olası risk faktörlerine göre düzeltme yapıldığında sırasıyla; *OGG1*, *XRCC1* ve *MTH1* bölgelerine göre riskli olan genotipleri taşımanın Parkinson yatkinlığı üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkilerinin olup olmadığı ise çoklu değişkenli (multiple) lojistik regresyon analizleri ile araştırıldı. Yaş ve cinsiyet gibi biyolojik etkenlerin yanı sıra tek değişkenli istatistiksel analizler sonucunda $p < 0,25$ olarak saptanan ve PH üzerinde etkili olabileceği düşünülen sigara ve diyabet öyküsü aday risk faktörleri olarak çoklu değişkenli lojistik regresyon modellerine dâhil edildi. Ayrıca, her bir değişkene ait Odds Oranı(OO), %95 güven aralığı ve Wald istatistikleri hesaplandı.

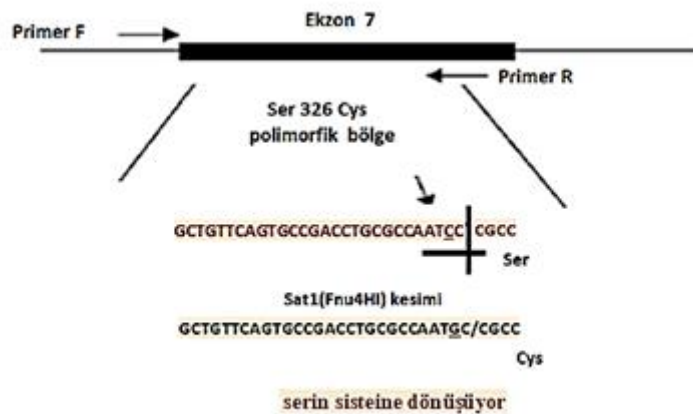
Verilerin analizi IBM SPSS Statistics 17.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) paket programında yapıldı. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. *OGG1 Ser326Cys* Polimorfizmi

Hasta ve Kontrol Grubunda Genotip Analiz Sonuçları

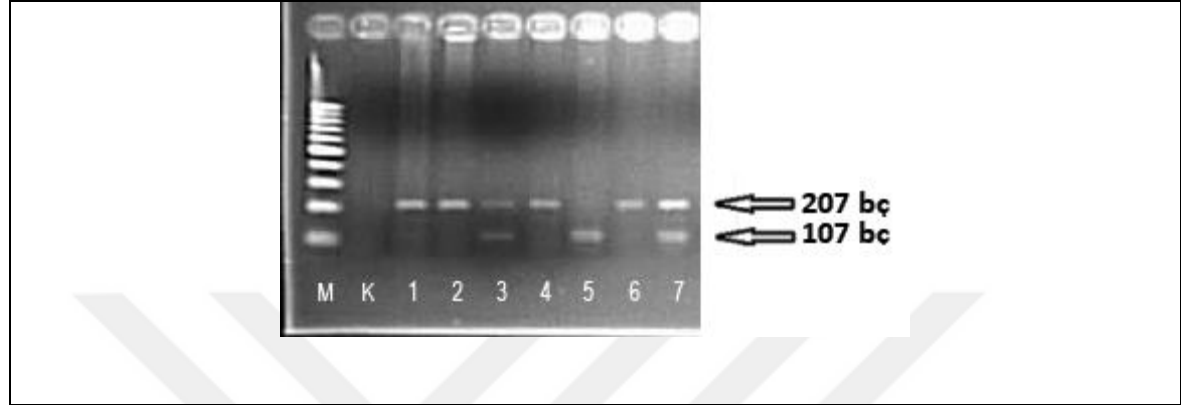
Türk popülasyonunda Parkinsonlu hastalarda *OGG1Ser326Cys* genetik polimorfizminin belirlenmesi amacıyla yapılan analizlerde 207 baz çiftlik (bç) *OGG1* geni çoğaltılarak elde edilen PCR ürünleri RFLP tekniği ile Sat1 (Fnu4HI) enzimi kullanılarak kesildi (Şekil 4.1). Sat I enzimi; 5' ...G C↓N G C...3' ve 3'...C G N↑C G...5' bölgelerinden amplifiye edilmiş DNA dizisini keser. Hasta ve kontrol grubu kesim ürünlerinin büyüklüklerine göre yabanıl tip, heterozigot ve mutant olarak adlandırıldı. Yabanıl tip *Ser/Ser* taşıyanlardı. Eğer *hOGG1* enziminin her iki allel geninde de mutasyon yoksa, enzim, *Ser/Ser* genotipine sahiptir ve Sat I enzimi tarafından kesilemeyerek, PCR ürünü 207 bç'lik şekilde bütünlüğünü korur. Bu allel için agaroz jel elektroforez UV-transillüminatör'de görüntülendiğinde 207 bç'lik kesilmemiş tek bant verdiği gözlemlendi. *Ser/Cys* taşıyanlar heterozigot olarak adlandırıldı. Eğer allellerden birinde mutasyon mevcutsa, kesim sonucunda 207 bç, 107 bç ve 100 bç'lik 3 adet DNA parçası meydana gelir ve enzim, *Ser/Cys* genotipine sahiptir. *Cys/Cys* taşıyanlar mutant olarak isimlendirildi(Çi). Her iki allelin de mutant olduğu durumda, PCR ürünü 107 bç ve 100 bç'lik 2 parçaya kesilir. Bu allel için kesim ürünleri UV-transillüminatörde görüntülendiğinde 107 ve 100 bç'lik iki bant gözlenmesi beklendi. Ancak 100 bç, 107 bç'ye çok yakın olduğu için hem heterozigot hem mutant bantlar için gözlemlenemedi. (Resim 4.1).



Şekil 4.1. *OGG1 Ser326Cys* polimorfizminin *Sat 1* ile kesimi

Çizelge 4.1. *hOGG1* enzimi Sat I ile kesim ürünleri.

<i>hOGG1</i>	Yabanıl Tip (Ser / Ser)	Heterozigot (Ser / Cys)	Mutant (Cys / Cys)
	207 bç	207 bç	
		107 bç	107 bç

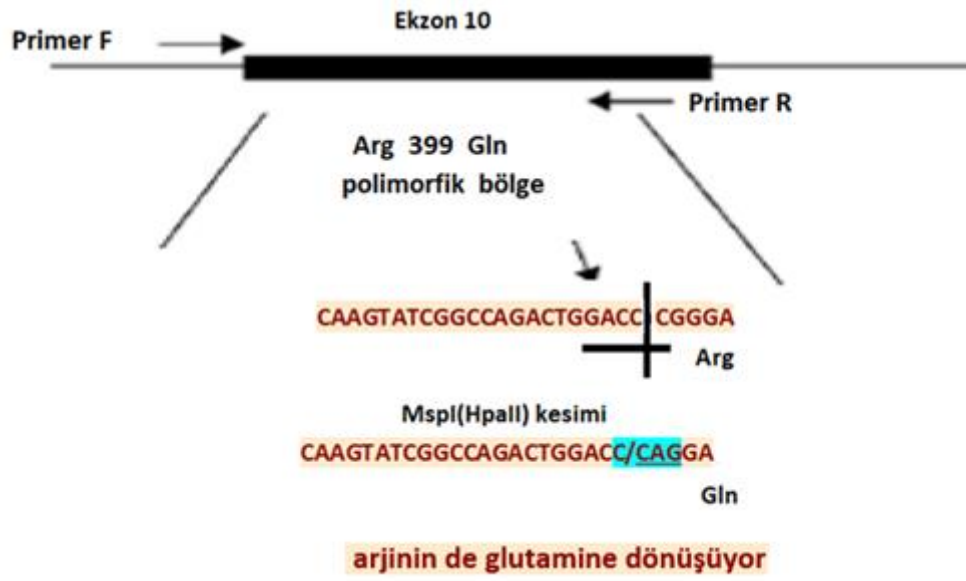


Resim 4.1. *OGG1* Ser326Cys polimorfizmi ve kesim ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi. M;100 baz çiftlik DNA moleküler ağırlık merdiveni, K; kör, 1,2,4,6 nolu sütunlar; yabanıl tip, 3,7 no'lu sütunlar; heterozigot, 5 nolu sütun; mutanttır.

4.2.XRCC1 Arg 399 Gln Polimorfizmi

Hasta ve Kontrol Grubunda Genotip Analiz Sonuçları

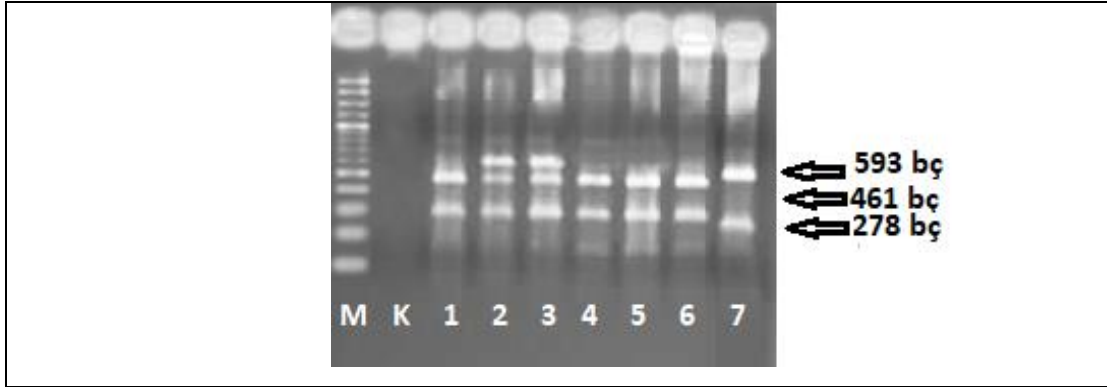
Türk popülasyonunda Parkinsonlu hastalarda *XRCC1 Arg399Gln* genetik polimorfizminin belirlenmesi amacıyla yapılan analizlerde 871 baz çiftlik (bç) *XRCC1* geni çoğaltılarak elde edilen PCR ürünleri MspI (HpaII) enzimi ile kesildi (Resim 4.2). MspI enzimi; 5' ... C↓C G G....3' ve 3'...G G C↑C ...5' bölgelerinden amplifiye edilmiş DNA dizisini keser. Yabanıl tip *Arg/Arg* taşıyanlardı. Bu allel için agaroz jel elektroforez UV-transillüminatör'de görüntülendiğinde 461 ve 278 bç'lik iki bant gözlendi. *Arg/Gln* taşıyanlar heterozigot olarak adlandırıldı. Kesim ürünleri 593,461 ve 278 bç'lik üç bant şeklindeydi. *Gln/Gln* taşıyanlar mutant olarak isimlendirildi(Çizelge 4.2). Bu allel için UV-transillüminatörde kesim ürünleri 593 ve 278 bç'lik iki bant şeklinde görüntülendi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *XRCC1* Arg399Gln polimorfizminin *MspI* (*HpaII*) ile kesimi

Çizelge 4.2. *XRCC1* enzimi *MspI* ile kesim ürünleri.

<i>XRCC1</i>	Yabancıl Tip(Arg/ Arg)	Heterozigot (Arg/Gln)	Mutant (Gln / Gln)
		593 bç	593 bç
	461 bç	461 bç	
	278 bç	278 bç	278 bç

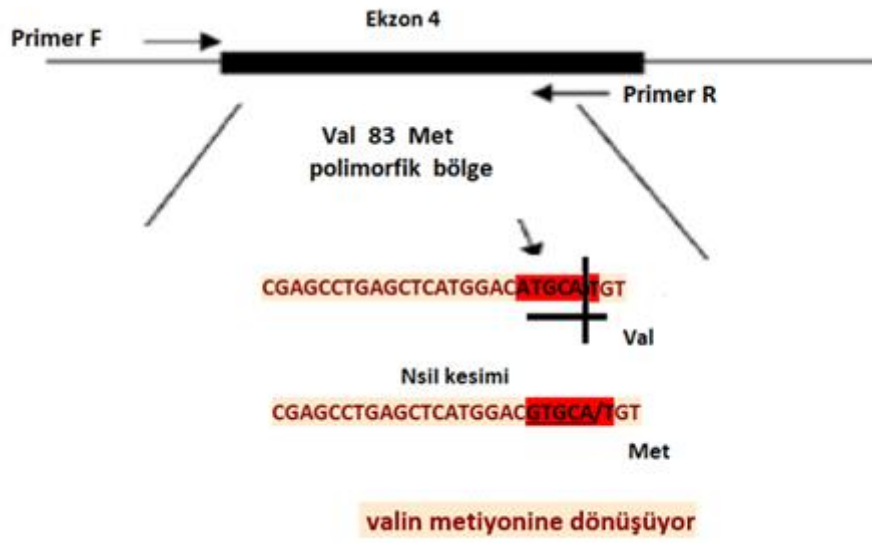


Resim 4.2. *XRCC1 Arg399Gln* polimorfizmi ve kesim ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi. M; 100 bç. moleküler ağırlık merdiveni, K; kör, 1,4,5,6 no'lu sütunlar; yabanıl tip, 2 ve 3 nolu sütunlar; heterozigot, 7 nolu sütun; mutant.

4.3. *MTH1 Val 83 Met* Polimorfizmi

Hasta ve Kontrol Grubunda Genotip Analiz Sonuçları

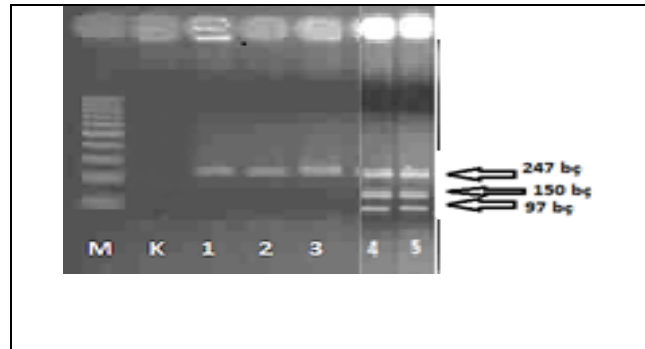
Türk popülasyonunda Parkinsonlu hastalarda *MTH1 Val83Met* genetik polimorfizminin belirlenmesi amacıyla yapılan analizlerde 247 bç'lik *MTH1* geni çoğaltılarak elde edilen PCR ürünleri NsiI enzimi ile kesildi (Şekil 4.3). NsiI enzimi; 5' ... A T G C A↓T3' ve 3' ...T↑A C G T A...5' bölgelerinden amplifiye edilmiş DNA dizisini keser. Yabanıl tip *Val/Val* taşıyanlardı. Bu allel için agaroz jel elektroforez UV-transillüminatörde görüntülendiğinde 247 bç'lik kesilmemiş tek bant verdiği gözlemlendi. *Val/Met* taşıyanlar heterozigot olarak adlandırıldı. Kesim ürünleri 247,150 ve 97 bç'lik üç bant verdi(Çizelge 4.3). *Met/Met* taşıyanlar mutant olarak isimlendirildi. Bu allel için kesim ürünleri UV-transillüminatör'de görüntülendiğinde 150 ve 97 bç'lik iki bant gözlenmesi beklenildi. Ancak çalışmamızda mutant gen gözlenmedi (Resim 4.3).



Şekil 4.3. *MTH1* Val83Met polimorfizminin *NsiI* kesim enzimi ile kesimi

Çizelge 4.3. *MTH1* enzimi *NsiI* ile kesim ürünleri.

<i>MTH1</i>	Yabancıl Tip (Val/ Val)	Heterozigot (Val/Met)	Mutant (<i>Met / Met</i>)
	247 bç	247 bç	
		150 bç	150 bç
		97 bç	97 bç



Resim 4.3. *MTH1* Val83Met polimorfizmi ve kesim ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi. M; 100 bç. moleküler ağırlık merdiveni, K; kör, 1,2,3 no'lu sütunlar; yabancı tip, 4 ve 5 nolu sütunlar; heterozigot.

4.4.Hasta ve Kontrol Grubuna Ait Demografik Bulgular

Hasta grubunun yaş ortalaması $65,5 \pm 11,6$ olup, 38 ile 91 yaş arası, kontrol grubu yaş ortalaması $62,1 \pm 9,6$ olup, 31 ile 82 yaş arası dağılım göstermektedir. Araştırmada yer alan

hasta ve sağlıklı kontrollerin kahve, çay, alkol, sigara kullanım alışkanlıkları, DM öyküsü ve cinsiyet için ki-kare (χ^2) analizindeki p değerleri, yaş ortalamaları karşılaştırması için yapılan t testindeki p değeri Çizelge 4.4 de özetlenmiştir.

Çizelge 4.4. Hasta ve kontrol gruplarına ait genel özellikler

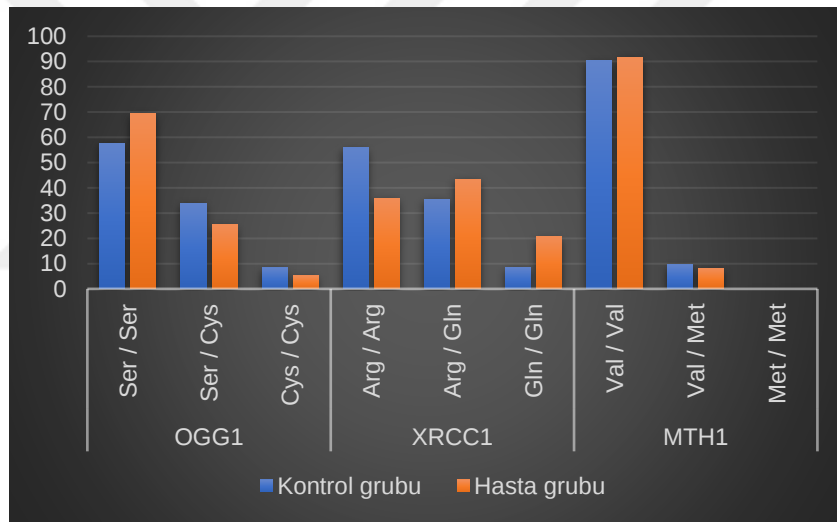
	Kontrol grubu (n=97)	Hastagrubu (n=102)	P değeri
Yaş, (ortalama $\pm$ standart sapma)	62,1 $\pm$ 9,6	65,5 $\pm$ 11,6	0,027[†]
Yaş grupları, n (%)			0,013[‡]
65 yaş altı	53 (54,6)	37 (37,0)	
65 yaş ve üstü	44 (45,4)	63 (63,0)	
Cinsiyet, n (%)			0,536 [‡]
Kadın	48 (49,5)	46 (45,1)	
Erkek	49 (50,5)	56 (54,9)	
Sigara, n (%)			0,211 [‡]
İçmeyen	49 (52,7)	61 (61,6)	
İçen	44 (47,3)	38 (38,4)	
Kahve, n (%)			0,292 [¶]
Kullanmayan	87 (93,5)	72 (87,8)	
Kullanan	6 (6,5)	10 (12,2)	
Çay, n (%)			0,021^{\$}
Kullanmayan	-	5 (6,1)	
Kullanan	93 (100,0)	77 (93,9)	
Alkol, n (%)			>0,999 [¶]
Kullanmayan	69 (74,2)	61 (75,3)	
Kullanan	24 (25,8)	20 (24,7)	
DM öyküsü, n (%)			0,095 [¶]
Yok	82 (88,2)	62 (77,5)	
Var	11 (11,8)	18 (22,5)	

† Student's t testi, ‡ Pearson'un Ki-kare testi, ¶ Süreklilik düzeltilmeli Ki-kare testi, \$ Fisher'in kesin sonuçlu olasılık testi.

Kontrol grubuna göre hasta grubunun yaş ortalaması klinik olarak önemli olmamakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti (p=0,027). Kontrol grubuna göre hasta grubunda 65 yaş ve üzerinde olan bireylerin oranı da istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti (p=0,013). Gruplar arasında kadın ve erkeklerin dağılımı istatistiksel olarak benzerdi (p> 0,05). Gruplar arasında sırasıyla; sigara öyküsü, kahve içme alışkanlığı, alkol kullanım öyküsü ve diabetes mellitus (DM) öyküsü açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi (p>0,05). Kontrol grubuna göre hasta grubunda çay içme alışkanlığı klinik olarak önemli olmamakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktü (p=0,021).

4.5. Kontrol Ve Parkinsonlu Hasta Gruplarının Genotip Analizleri

Kontrol grubunda *OGG1* polimorfizminin *Ser/Ser* genotipi %57,7 , *Ser/Cys* genotipi %34 ve *Cys/Cys* genotipi %8,3 olarak bulundu(Şekil 4.4). Parkinsonlu gruba bakıldığında *Ser/Ser* genotipi % 69,4 , *Ser/Cys* genotipi %25,3 ve *Cys/Cys* genotip %5,3'tür. *XRCC1* kodon 399'da kontrol grubunun *Arg/Arg* genotipi %55,9 , *Arg/Gln* genotipi %35,5 ve *Gln/Gln* genotipi %8,6 elde edildi. Parkinsonlu gruba bakıldığında *Arg/Arg* genotipi %35,9 , *Arg/Gln* genotipi %43,5 ve *Gln/Gln* genotipi %20,6 'dır. *MTH1* kodon 83'te kontrol grubunun *Val/Val* genotipi %90,4 , *Val/Met* genotipi %9,6 ve *Met/Met* genotipi %0 elde edildi. Parkinsonlu gruba bakıldığında *Val/Val* genotipi %91,8, *Val/Met* genotipi %8,2 ve *Met/Met* genotipi %0 olarak bulundu.



Şekil 4.4. Kontrol ve hasta gruplarının *OGG1 Ser326Cys*, *XRCC1 Arg399Gln* ve *MTH1 Val83Met* genotip dağılımları

4.6. hOGG1, XRCC1 ve hMTH1 Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Allel Frekans Dağılımları

OGG1 Ser326Cys polimorfizmine ait allel frekans dağılımı yönünden gruplar arasındaki farkın önemi incelenmiştir (Çizelge 4.5). Ser ya da Cys allelini taşıyor olmanın hastalık varlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir belirleyiciliğinin olmadığı görüldü ($p=0,081$).

Çizelge 4.5. *OGG1 Ser326Cys* polimorfizmine ait allel frekans dağılımı

	Kontrol grubu	Hasta grubu	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
Ser	145 (%74,7)	156 (%82,1)	-	1,000
Cys	49 (%25,3)	34 (%17,9)	0,081	0,645 (0,394-1,055)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Çizelge 4.6'da *XRCC1 Arg399Gln* polimorfizmine ait allel frekans dağılımı yönünden gruplar arasındaki farkın önemliliği görüldü. Arg allelini taşıyanlara göre Gln allelini taşıyanlarda hastalığın görülme ihtimali istatistiksel olarak anlamlı 2,057 kat (%95 Güven Aralığı: 1,328-3,188) daha fazlaydı ($p<0,001$).

Çizelge 4.6. *XRCC1 Arg399Gln* polimorfizmine ait allel frekans dağılımı

	Kontrol grubu	Hasta grubu	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
Arg	137 (%73,7)	106 (%57,6)	-	1,000
Gln	49 (%26,3)	78 (%42,4)	<0,001	2,057 (1,328-3,188)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

MTH1 Val83Met polimorfizmine ait allel frekans dağılımı yönünden gruplar arasındaki farkın önemliliği incelendi (Çizelge 4.7). *Val* ya da *Met* allelini taşıyor olmanın hastalık varlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir belirleyiciliğinin olmadığı görüldü ($p=0,753$).

Çizelge 4.7. *MTH1 Val83Met* polimorfizmine ait allel frekans dağılımı

	Kontrol grubu	Hasta grubu	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
Val	179 (%95,2)	186 (%95,9)	-	1,000
Met	9 (%4,8)	8 (%4,1)	0,753	0,855 (0,323-2,266)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO:Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Kontrol grubu içerisinde 3 (*hOGG1 Ser326Cys*, *XRCC1 Arg399Gln* ve *MTH1 Val83Met*) genotip dağılımı yönünden gözlenen ile beklenen frekanslar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Böylece seçilen kontrol grubunun Hardy-Weinberg dengesi açısından mevcut çalışma için (her 3 gen polimorfizmi için) uygun bir grup olduğu görülmüştür.

4.7. *hOGG1*, *XRCC1* ve *hMTH1* Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi

hOGG1 Ser326Cys genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. PH varlığı ile *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$) (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
Ser / Ser	56 (%57,7)	66 (%69,4)	-	1,000
Ser / Cys	33 (%34,0)	24 (%25,3)	0,136	0,617 (0,327-1,164)
Cys / Cys	8 (%8,3)	5 (%5,3)	0,289	0,530 (0,164-1,713)
Ser / Cys + Cys / Cys	41 (%42,3)	29 (%30,6)	0,092	0,600 (0,331-1,087)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

XRCC1 Arg399Gln genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi (Çizelge 4.9). *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali istatistiksel anlamlı olarak 1,910 kat (%95 GA: 1,013-3,603), *Gln / Gln* genotipini taşıyanlarda ise PH'nın görülme ihtimali istatistiksel anlamlı olarak 3,742 kat (%95 GA: 1,470-9,525) artmaktaydı ($p=0,046$ ve $p=0,006$). Ayrıca, *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* veya *Gln / Gln* genotiplerini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali istatistiksel olarak anlamlı 2,268 kat (%95 GA: 1,256-4,094) artmaktaydı ($p=0,007$).

Çizelge 4.9. *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Arg / Arg</i>	52 (%55,9)	33 (%35,9)	-	1,000
<i>Arg / Gln</i>	33 (%35,5)	40 (%43,5)	0,046	1,910 (1,013-3,603)
<i>Gln / Gln</i>	8 (%8,6)	19 (%20,6)	0,006	3,742 (1,470-9,525)
<i>Arg / Gln + Gln / Gln</i>	41 (%44,1)	59 (%64,1)	0,007	2,268 (1,256-4,094)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

MTH1 Val83Met genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi (Çizelge 4.10). PH varlığı ile *MTH1 Val83Met* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,748$).

Çizelge 4.10. *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Val / Val</i>	85 (%90,4)	89 (%91,8)	-	1,000
<i>Val/ Met</i>	9 (%9,6)	8 (%8,2)	0,748	0,849 (0,313-2,302)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

4.8. *hOGG1*, *XRCC1* ve *hMTH1* Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Sigara Kullanımı ve Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi

Sigara öyküsü olduğu bilinen bireyler içerisinde *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendiğinde PH varlığı ile *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$) (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre sigara kullanımında Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Ser / Ser</i>	26 (%59,1)	23 (%63,9)	-	1,000
<i>Ser / Cys</i>	16 (%36,4)	10 (%27,8)	0,482	0,707 (0,268-1,862)
<i>Cys / Cys</i>	2 (%4,5)	3 (%8,3)	0,581	1,696 (0,260-11,058)
<i>Ser / Cys + Cys / Cys</i>	18 (%40,9)	13 (%36,1)	0,661	0,816 (0,329-2,023)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Sigara öyküsü olduğu bilinen bireyler içerisinde *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi (Çizelge 4.12). *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimalinde istatistiksel olarak anlamlı değişim görülmezken [OO= 1,466 (%95 GA: 0,537-4,001) ve $p=0,456$], *Gln / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali istatistiksel anlamlı olarak 9,583 kat (%95 GA: 1,802-50,956) artmaktaydı ($p=0,008$). Ayrıca, *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* veya *Gln / Gln* genotiplerini taşıyor olmanın PH varlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi görülmedi [OO= 2,320 (%95 GA: 0,920-5,853) ve $p=0,075$].

Çizelge 4.12. *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre sigara kullanımında Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Arg / Arg</i>	23 (%54,8)	12 (%34,3)	-	1,000
<i>Arg / Gln</i>	17 (%40,5)	13 (%37,1)	0,456	1,466 (0,537-4,001)
<i>Gln / Gln</i>	2 (%4,7)	10 (%28,6)	0,008	9,583 (1,802-50,956)
<i>Arg / Gln + Gln / Gln</i>	19 (%45,2)	23 (%65,7)	0,075	2,320 (0,920-5,853)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Sigara öyküsü olduğu bilinen bireyler içerisinde *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi(Çizelge 4.13'de). PH varlığı ile *MTH1 Val83Met* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p=0,908).

Çizelge 4.13. *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre sigara kullanımında Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Val / Val</i>	38 (%88,4)	33 (%89,2)	-	1,000
<i>Val / Met</i>	5 (%11,6)	4 (%10,8)	0,908	0,921 (0,228-3,717)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

4.9. *hOGG1*, *XRCC1* ve *hMTH1* Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Diabetes Mellitus Öyküsü ve PH Riski Üzerine Etkisi

Çizelge 4.14'de diyabet öyküsü olduğu bilinen bireyler içerisinde *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. PH varlığı ile *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0,05).

Çizelge 4.14. Diyabet hastası olanlarda *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre Parkinson riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Ser / Ser</i>	9 (%81,8)	13 (%72,2)	-	1,000
<i>Ser / Cys</i>	2 (%18,2)	3 (%16,7)	0,970	1,038 (0,143-7,527)
<i>Cys / Cys</i>	0 (%0,0)	2 (%11,1)	HY	HY
<i>Ser / Cys + Cys / Cys</i>	2 (%18,2)	5 (%27,8)	0,560	1,731 (0,273-10,974)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO:Odds Oranı, GA: Güven Aralığı, HY: Hesaplama yapılamadı.

Diyabet öyküsü olduğu bilinen bireyler içerisinde *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi(Çizelge 4.15). *Arg / Arg* genotipini

taşıyanlara göre *Arg / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali istatistiksel anlamlı olarak 9,778 kat (%95 Güven Aralığı: 1,551-61,646) artmaktaydı ($p=0,015$). *Gln / Gln* genotipine sahip olmak ile PH varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı birey sayısı yeterli olmadığı için hesaplanamadı. *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* veya *Gln / Gln* genotipini taşıyanlarda (*Arg / Gln* genotipini taşıyanlardan kaynaklı olarak) PH'nın görülme ihtimali de istatistiksel olarak anlamlı 12,444 kat (%95 GA: 2,015-76,872) artmaktaydı ($p=0,007$).

Çizelge 4.15. Diyabet hastası olanlarda *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre Parkinson riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Arg / Arg</i>	8 (%72,7)	3 (%17,6)	-	1,000
<i>Arg / Gln</i>	3 (%27,3)	11 (%64,8)	0,015	9,778 (1,551-61,646)
<i>Gln / Gln</i>	0 (%0,0)	3 (%17,6)	HY	HY
<i>Arg / Gln + Gln / Gln</i>	3 (%27,3)	14 (%82,4)	0,007	12,444 (2,015-76,872)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO:Odds Oranı, GA: Güven Aralığı, HY: Hesaplama yapılamadı.

Diyabet öyküsü olduğu bilinen bireyler içerisinde *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği birey sayısı yeterli olmadığı için hesaplanamadı(Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Diyabet hastası olanlarda *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre Parkinson riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Val / Val</i>	10 (%90,9)	18 (%100,0)	-	1,000
<i>Val / Met</i>	1 (%9,1)	0 (%0,0)	HY	HY

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO:Odds Oranı, GA: Güven Aralığı, HY: Hesaplama yapılamadı.

4.10. *hOGG1*, *XRCC1* ve *hMTH1* Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Alkol Kullanımı ve Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi

Alkol öyküsü olduğu bilinen bireyler içerisinde *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendiğinde PH varlığı ile *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$) (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre alkol alanlarda Parkinson Hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
Ser / Ser	11 (%45,8)	11 (%55,0)	-	1,000
Ser / Cys	11 (%45,8)	7 (%35,0)	0,483	0,636 (0,180-2,251)
Cys / Cys	2 (%8,4)	2 (%10,0)	>0,999	1,000 (0,119-8,421)
Ser / Cys + Cys / Cys	13 (%54,2)	9 (%45,0)	0,545	0,692 (0,210-2,280)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO:Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Alkol öyküsü olduğu bilinen bireyler içerisinde *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali istatistiksel anlamlı olarak 4,714 kat (%95 GA: 1,178-18,861) artarken ($p=0,028$), *Gln / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimalinde istatistiksel olarak anlamlı değişim görülmedi [OO= 4,500 (%95 GA: 0,576-35,153) ve $p=0,152$]. Ayrıca, *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* veya *Gln / Gln* genotiplerini taşıyor olmanın Parkinson görülme ihtimalini istatistiksel anlamlı olarak 4,667 kat (%95 GA: 1,255-17,358) artırdığı gözlemlendi ($p=0,022$) (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre alkol alanlarda Parkinson Hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Arg / Arg</i>	15 (%62,5)	5 (%26,3)	-	1,000
<i>Arg / Gln</i>	7 (%29,2)	11 (%57,9)	0,028	4,714 (1,178-18,861)
<i>Gln / Gln</i>	2 (%8,3)	3 (%15,8)	0,152	4,500 (0,576-35,153)
<i>Arg / Gln + Gln / Gln</i>	9 (%37,5)	14 (%73,7)	0,022	4,667 (1,255-17,358)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO:Odds Oranı, GA: Güven Aralığı

Alkol öyküsü olduğu bilinen bireyler içerisinde *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. PH varlığı ile *MTH1 Val83Met* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,848$) (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre alkol alanlarda Parkinson Hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Val / Val</i>	22 (%91,7)	18 (%90,0)	-	1,000
<i>Val/ Met</i>	2 (%8,3)	2 (%10,0)	0,848	1,222 (0,156-9,557)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

4.11. *hOGG1*, *XRCC1* ve *hMTH1* Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Kahve İçme Alışkanlığı ve Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi

Kahve içme alışkanlığı olan bireyler içerisinde *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi(Çizelge 4.20). PH varlığı ile *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Çizelge 4.20. *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre kahve kullananlarda Parkinson Hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Ser / Ser</i>	1 (%16,7)	6 (%60,0)	-	1,000
<i>Ser / Cys</i>	4 (%66,7)	4 (%40,0)	0,165	0,167 (0,013-2,093)
<i>Cys / Cys</i>	1 (%16,7)	0 (%0,0)	HY	HY
<i>Ser / Cys + Cys / Cys</i>	5 (%83,3)	4 (%40,0)	0,113	0,133 (0,011-1,611)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO:Odds Oranı, GA: Güven Aralığı, HY: Hesaplama yapılamadı.

Kahve içme alışkanlığı olan bireyler içerisinde *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. PH varlığı ile *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerinin dağılımı arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre kahve kullananlarda Parkinson Hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Arg / Arg</i>	3 (%50,0)	4 (%40,0)	-	1,000
<i>Arg / Gln</i>	2 (%33,3)	4 (%40,0)	0,725	1,500 (0,156-14,420)
<i>Gln / Gln</i>	1 (%16,7)	2 (%20,0)	0,779	1,500 (0,089-25,392)
<i>Arg / Gln + Gln / Gln</i>	3 (%50,0)	6 (%60,0)	0,697	1,500 (0,195-11,536)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO:Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Kahve içme alışkanlığı olan bireyler içerisinde *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği birey sayısı yeterli olmadığı için hesaplanamadı(Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre kahve kullananlarda Parkinson Hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Val / Val</i>	6 (%100,0)	10 (%100,0)	-	1,000
<i>Val/ Met</i>	0 (%0,0)	0 (%0,0)	HY	HY

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO:Odds Oranı, GA: Güven Aralığı, HY: Hesaplama yapılamadı.

4.12. *hOGG1*, *XRCC1* ve *hMTH1* Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Çay İçme Alışkanlığı ve Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi

Çay içme alışkanlığı olan bireyler içerisinde *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. PH varlığı ile *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0,05) (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre çay içenlerde Parkinson riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Ser / Ser</i>	55 (%59,1)	47 (%62,7)	-	1,000
<i>Ser / Cys</i>	32 (%34,4)	23 (%30,7)	0,609	0,841 (0,434-1,631)
<i>Cys / Cys</i>	6 (%6,5)	5 (%6,7)	0,969	0,975 (0,280-3,400)
<i>Ser / Cys + Cys / Cys</i>	38 (%40,9)	28 (%37,3)	0,642	0,862 (0,462-1,610)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO:Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Çay içme alışkanlığı olan bireyler içerisinde *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimalinde istatistiksel olarak anlamlı değişim görülmezken [OO= 1,960 (%95 GA: 0,991-3,876) ve p=0,053], *Gln / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali istatistiksel anlamlı olarak 3,920 kat (%95 GA: 1,477-10,402) artmaktaydı (p=0,006). Ayrıca, *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* veya *Gln / Gln* genotiplerini taşıyor olmanın Parkinson görülme ihtimalini istatistiksel anlamlı olarak 2,342 kat (%95 GA: 1,240-4,423) artırdığı gözlemlendi (p=0,009) (Çizelge 4.24).

Çizelge 4.24. *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre çay içenlerde Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Arg / Arg</i>	49 (%54,4)	25 (%33,8)	-	1,000
<i>Arg / Gln</i>	33 (%36,7)	33 (%44,6)	0,053	1,960 (0,991-3,876)
<i>Gln / Gln</i>	8 (%8,9)	16 (%21,6)	0,006	3,920 (1,477-10,402)
<i>Arg / Gln + Gln / Gln</i>	41 (%45,6)	49 (%66,2)	0,009	2,342 (1,240-4,423)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Çay içme alışkanlığı olan bireyler içerisinde *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. PH varlığı ile *MTH1 Val83Met* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p=0,673) (Çizelge 4.25).

Çizelge 4.25. *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre çay içenlerde Parkinson riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Val / Val</i>	82 (%90,1)	69 (%92,0)	-	1,000
<i>Val/ Met</i>	9 (%9,9)	6 (%8,0)	0,673	0,792 (0,269-2,336)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

4.13. *hOGG1*, *XRCC1* ve *hMTH1* Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Yaşlanma ve Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi

65 yaş ve üzeri bireyler içerisinde *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. PH varlığı ile *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0,05) (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26. 65 yaş ve üzeri bireylerde *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre Parkinson riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Ser / Ser</i>	25 (%56,8)	39 (%66,1)	-	1,000
<i>Ser / Cys</i>	18 (%40,9)	17 (%28,8)	0,237	0,605 (0,264-1,391)
<i>Cys / Cys</i>	1 (%2,3)	3 (%5,1)	0,580	1,923 (0,189-19,534)
<i>Ser / Cys + Cys / Cys</i>	19 (%43,2)	20 (%33,9)	0,338	0,675 (0,302-1,508)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

65 yaş ve üzeri bireyler içerisinde *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimalinde istatistiksel olarak anlamlı değişim

görülmezken [OO= 2,329 (%95 Güven Aralığı: 0,953-5,694) ve p=0,064], *Gln / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali istatistiksel anlamlı olarak 4,400 kat (%95 Güven Aralığı: 1,317-14,700) artmaktaydı (p=0,016). Ayrıca, *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* veya *Gln / Gln* genotiplerini taşıyor olmanın Parkinson görülme ihtimalini istatistiksel anlamlı olarak 2,800 kat (%95 GA: 1,215-6,452) artırdığı gözlemlendi (p=0,016) (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27. 65 yaş ve üzeri bireylerde *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre Parkinson riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Arg / Arg</i>	22 (%50,0)	15 (%26,3)	-	1,000
<i>Arg / Gln</i>	17 (%38,6)	27 (%47,4)	0,064	2,329 (0,953-5,694)
<i>Gln / Gln</i>	5 (%11,4)	15 (%26,3)	0,016	4,400 (1,317-14,700)
<i>Arg / Gln + Gln / Gln</i>	22 (%50,0)	42 (%73,7)	0,016	2,800 (1,215-6,452)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

65 yaş ve üzeri bireyler içerisinde *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. PH varlığı ile *MTH1 Val83Met* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p=0,606) (Çizelge 4.28'te).

Çizelge 4.28. 65 yaş ve üzeri bireylerde *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
<i>Val / Val</i>	39 (%88,6)	55 (%91,7)	-	1,000
<i>Val / Met</i>	5 (%11,4)	5 (%8,3)	0,606	0,709 (0,192-2,617)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

4.14. *hOGG1*, *XRCC1* ve *hMTH1* Genlerinin İncelenen Genetik Polimorfizmlerinin Cinsiyet Ve Parkinson Hastalığı Riski Üzerine Etkisi

Cinsiyet grupları içerisinde *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. Gerek kadınlar gerek erkekler içerisinde PH varlığı ile *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0,05) (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.29. Cinsiyet sabit tutulduğunda *hOGG1 Ser326Cys* genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
--	---------	-------	-----------------------	-------------

Kadın				
Ser / Ser	28 (%58,3)	31 (%72,1)	-	1,000
Ser / Cys	17 (%35,4)	11 (%25,6)	0,250	0,584 (0,234-1,458)
Cys / Cys	3 (%6,3)	1 (%2,3)	0,311	0,301 (0,030-3,064)
Ser / Cys + Cys / Cys	20 (%41,7)	12 (%27,9)	0,172	0,542 (0,225-1,306)
Erkek				
Ser / Ser	28 (%57,1)	35 (%67,3)	-	1,000
Ser / Cys	16 (%32,7)	13 (%25,0)	0,340	0,650 (0,268-1,574)
Cys / Cys	5 (%10,2)	4 (%7,7)	0,534	0,640 (0,157-2,610)
Ser / Cys + Cys / Cys	21 (%42,9)	17 (%32,7)	0,293	0,648 (0,288-1,456)

† Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Çizelge 4.30'da cinsiyet grupları içerisinde *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. Kadınlar içerisinde PH varlığı ile *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Erkekler içerisinde ise *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimalinde istatistiksel olarak anlamlı değişim görülmezken [OO= 2,159 (%95 GA: 0,903-5,162) ve $p=0,083$], *Gln / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali istatistiksel anlamlı olarak 5,098 kat (%95 Güven Aralığı: 1,223-21,254) artmaktaydı ($p=0,025$). Ayrıca, *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* veya *Gln / Gln* genotiplerini taşıyor olmanın Parkinson görülme ihtimalini istatistiksel anlamlı olarak 2,600 kat (%95 GA: 1,141-5,926) artırdığı gözlemlendi ($p=0,023$).

Çizelge 4.30. Cinsiyet sabit tutulduğunda *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
Kadın				
<i>Arg / Arg</i>	26 (%55,3)	16 (%39,0)	-	1,000
<i>Arg / Gln</i>	16 (%34,0)	16 (%39,0)	0,307	1,625 (0,640-4,125)
<i>Gln / Gln</i>	5 (%10,7)	9 (%22,0)	0,095	2,925 (0,831-10,293)
<i>Arg / Gln + Gln / Gln</i>	21 (%44,7)	25 (%61,0)	0,129	1,935 (0,826-4,531)
Erkek				
<i>Arg / Arg</i>	26 (%56,5)	17 (%33,3)	-	1,000
<i>Arg / Gln</i>	17 (%37,0)	24 (%47,1)	0,083	2,159 (0,903-5,162)
<i>Gln / Gln</i>	3 (%6,5)	10 (%19,6)	0,025	5,098 (1,223-21,254)
<i>Arg / Gln + Gln / Gln</i>	20 (%43,5)	34 (%66,7)	0,023	2,600 (1,141-5,926)

† Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Çizelge 4.31'de cinsiyet grupları içerisinde *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre PH'nın görülme ihtimalinin değişip değişmediği incelendi. Gerek kadınlar gerek erkekler içerisinde PH varlığı ile *MTH1 Val83Met* genotiplerinin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,545$ ve $p=0,895$).

Çizelge 4.31. Cinsiyet sabit tutulduğunda *MTH1 Val83Met* genotiplerine göre Parkinson hastalık riskinin değerlendirilmesi

	Kontrol	Hasta	p-değeri [†]	OO (%95 GA)
Kadın				
Val / Val	42 (%89,4)	40 (%93,0)	-	1,000
Val/ Met	5 (%10,6)	3 (%7,0)	0,545	0,630 (0,141-2,811)
Erkek				
Val / Val	43 (%91,5)	49 (%90,7)	-	1,000
Val/ Met	4 (%8,5)	5 (%9,3)	0,895	1,097 (0,277-4,348)

[†] Tek değişkenli lojistik regresyon analizi, OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

4.15. Hastaların Genel Özelliklere Göre Düzeltmeler Yapıldıktan Sonra *OGG1 Ser326Cys* Genotipleri ile Parkinson Hastalık Riskinin Değerlendirilmesi

Hastaların genel özelliklere göre düzeltmeler yapıldıktan sonra *OGG1 Ser326Cys* genotipleri ile PH varlığı arasında fark olup olmadığı çoklu değişkenli lojistik regresyon analizleri ile değerlendirildi(Çizelge 4.32).

Çizelge 4.32. Hastaların genel özelliklere göre düzeltmeler yapıldıktan sonra *OGG1 Ser326Cys* genotipleri ile Parkinson riskinin değerlendirilmesi – çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları –

	OO	%95 Güven Aralığı		Wald	p-değeri
		Alt sınır	Üst sınır		
Model 1					
≥65 yaş	2,152	1,173	3,949	6,127	0,013
Erkek faktör	0,996	0,547	1,814	0,000	0,990
Ser / Cys	0,588	0,306	1,128	2,550	0,110
Cys / Cys	0,640	0,192	2,136	0,526	0,468
Model 2					
≥65 yaş	2,138	1,175	3,890	6,192	0,013
Erkek faktör	1,001	0,552	1,815	0,000	0,998
Ser / Cys + Cys / Cys	0,597	0,325	1,097	2,764	0,096
Model 3					
≥65 yaş	1,588	0,817	3,086	1,864	0,172
Erkek faktör	1,387	0,666	2,889	0,764	0,382
Sigara öyküsü	0,628	0,305	1,292	1,598	0,206
DM öyküsü	2,001	0,848	4,721	2,506	0,113
Ser / Cys	0,823	0,415	1,633	0,312	0,577
Cys / Cys	0,759	0,193	2,978	0,157	0,692
Model 4					
≥65 yaş	1,596	0,826	3,085	1,932	0,165
Erkek faktör	1,383	0,665	2,873	0,754	0,385
Sigara öyküsü	0,628	0,305	1,292	1,595	0,207
DM öyküsü	1,991	0,847	4,680	2,495	0,114
Ser / Cys + Cys / Cys	0,812	0,425	1,551	0,397	0,528

OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Model 1’de biyolojik faktörlere (yaş ve cinsiyete) göre düzeltme yapıldığında *Ser / Cys* ve *Cys / Cys* genotiplerini taşıyor olmanın PH varlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi görülmedi ($p=0,110$ ve $p=0,468$).

Model 2’de biyolojik faktörlere (yaş ve cinsiyete) göre düzeltme yapıldığında *Ser / Cys* veya *Cys / Cys* genotiplerini taşıyor olmanın da PH varlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi görülmedi ($p=0,096$).

Model 3’te biyolojik (yaş ve cinsiyet) ve tek değişkenli istatistiksel analizler sonucunda PH varlığı üzerinde etkili olabileceği düşünülen klinik (sigara öyküsü ve DM öyküsü) özelliklere göre düzeltme yapıldığında *Ser / Cys* ve *Cys / Cys* genotiplerini taşıyor olmanın PH varlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi görülmedi ($p=0,577$ ve $p=0,692$).

Model 4’te biyolojik (yaş ve cinsiyet) ve tek değişkenli istatistiksel analizler sonucunda PH üzerinde etkili olabileceği düşünülen klinik (sigara öyküsü ve DM öyküsü) özelliklere göre düzeltme yapıldığında *Ser / Cys* veya *Cys / Cys* genotiplerini taşıyor olmanın da PH varlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi görülmedi ($p=0,528$).

4.16. Hastaların Genel Özelliklere Göre Düzeltmeler Yapıldıktan Sonra *XRCC1 Arg399Gln* Genotipleri ile Parkinson Hastalık Riskinin Değerlendirilmesi

Çizelge 4.33’da hastaların genel özelliklere göre düzeltmeler yapıldıktan sonra *XRCC1 Arg399Gln* genotipleri ile PH varlığı arasında fark olup olmadığı çoklu değişkenli lojistik regresyon analizleri ile değerlendirildi.

Çizelge 4.33. Hastaların genel özelliklere göre düzeltmeler yapıldıktan sonra *XRCC1 Arg399Gln* genotipleri ile Parkinson riskinin değerlendirilmesi – çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları –

	OO	%95 GA		Wald	p-değeri
		Alt sınır	Üst sınır		
Model 1					
≥65 yaş	1,531	0,819	2,864	1,779	0,182
Erkek faktör	1,145	0,620	2,117	0,188	0,665
Arg / Gln	1,730	0,906	3,304	2,758	0,097
Gln / Gln	3,347	1,289	8,689	6,158	0,013
Model 2					
≥65 yaş	1,594	0,857	2,967	2,166	0,141
Erkek faktör	1,110	0,603	2,041	0,112	0,738
Arg / Gln + Gln / Gln	2,036	1,112	3,730	5,304	0,021
Model 3					
≥65 yaş	1,187	0,596	2,365	0,239	0,625
Erkek faktör	1,539	0,729	3,250	1,279	0,258
Sigara öyküsü	0,622	0,299	1,293	1,615	0,204
DM öyküsü	2,090	0,873	5,005	2,736	0,098
Arg / Gln	1,769	0,884	3,538	2,600	0,107
Gln / Gln	3,772	1,380	10,310	6,697	0,010
Model 4					
≥65 yaş	1,257	0,637	2,483	0,435	0,509
Erkek faktör	1,456	0,696	3,045	0,997	0,318
Sigara öyküsü	0,632	0,306	1,308	1,528	0,216
DM öyküsü	1,954	0,821	4,647	2,294	0,130
Arg / Gln + Gln / Gln	2,133	1,116	4,077	5,258	0,022

OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Model 1’de biyolojik faktörlere (yaş ve cinsiyete) göre düzeltme yapıldığında *Arg / Gln* genotipini taşıyor olmanın PH varlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi görülmezken [OO=1,730 (%95 GA: 0,906-3,304) ve p=0,097], *Gln / Gln* genotipini taşıyanlarda PH’nın görülme ihtimali istatistiksel anlamlı olarak 3,347 kat (%95 GA: 1,289-8,689) artmaktaydı (p=0,013).

Model 2’de biyolojik faktörlere (yaş ve cinsiyete) göre düzeltme yapıldığında *Arg / Gln* veya *Gln / Gln* genotipini taşımanın PH görülme ihtimalini istatistiksel anlamlı olarak 2,036 kat (%95 GA: 1,112-3,730) artırdığı görüldü (p=0,021).

Model 3’te biyolojik (yaş ve cinsiyet) ve tek değişkenli istatistiksel analizler sonucunda PH varlığı üzerinde etkili olabileceği düşünülen klinik (sigara öyküsü ve DM öyküsü) özelliklere göre düzeltme yapıldığında *Arg / Gln* genotipini taşıyor olmanın PH varlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi görülmezken [OO=1,769 (%95 GA: 0,884-3,538) ve

$p=0,107$], *Gln / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali istatistiksel anlamlı olarak 3,772 kat (%95 GA: 1,380-10,310) artmaktaydı ($p=0,010$).

Model 4'te biyolojik (yaş ve cinsiyet) ve tek değişkenli istatistiksel analizler sonucunda PH varlığı üzerinde etkili olabileceği düşünülen klinik (sigara öyküsü ve DM öyküsü) özelliklere göre düzeltme yapıldığında *Arg / Gln* veya *Gln / Gln* genotipini taşımanın PH görülme ihtimalini istatistiksel anlamlı olarak 2,133 kat (%95 GA: 1,116-4,077) artırdığı görüldü ($p=0,022$).

4.17. Hastaların Genel Özelliklere Göre Düzeltmeler Yapıldıktan Sonra *MTH1 Val83Met* Genotipleri İle Parkinson Riskinin Değerlendirilmesi

Çizelge 4.34'de hastaların genel özelliklere göre düzeltmeler yapıldıktan sonra *MTH1 Val83Met* genotipleri ile PH varlığı arasında fark olup olmadığı çoklu değişkenli lojistik regresyon analizleri ile değerlendirildi.

Çizelge 4.34. Hastaların genel özelliklere göre düzeltmeler yapıldıktan sonra *MTH1 Val83Met* genotipleri ile Parkinson riskinin değerlendirilmesi – çoklu değişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları –

	OO	%95 GA		Wald	p-değeri
		Alt sınır	Üst sınır		
Model 1					
≥65 yaş	1,946	1,074	3,529	4,813	0,028
Erkek faktör	1,057	0,585	1,910	0,034	0,853
<i>Val / Met</i>	0,706	0,248	2,013	0,423	0,515
Model 2					
≥65 yaş	1,579	0,816	3,055	1,841	0,175
Erkek faktör	1,459	0,701	3,036	1,022	0,312
Sigara öyküsü	0,621	0,302	1,279	1,671	0,196
DM öyküsü	1,999	0,856	4,669	2,559	0,110
<i>Val / Met</i>	0,703	0,216	2,290	0,341	0,559

OO: Odds Oranı, GA: Güven Aralığı.

Model 1'de biyolojik faktörlere (yaş ve cinsiyete) göre düzeltme yapıldığında *Val / Met* genotipini taşıyor olmanın PH varlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi görülmedi ($p=0,515$).

Model 2’de biyolojik (yaş ve cinsiyet) ve tek değişkenli istatistiksel analizler sonucunda PH varlığı üzerinde etkili olabileceği düşünülen klinik (sigara öyküsü ve DM öyküsü) özelliklere göre düzeltme yapıldığında *Val / Met* genotipini taşıyor olmanın PH varlığı üzerinde yine istatistiksel olarak anlamlı etkisi görülmedi ($p=0,559$).





5.TARTIŞMA

Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığından sonra ikinci sırada en yaygın olarak görülen, SN dopaminerjik nöronlarını içeren nöromelaninin progresif ve derin kaybıyla karakterize bir hastalıktır. PH bireylerinin çoğunluğu, bireyin kalıtsal genetik yatkınlığı, çevresel risk faktörlerine maruz kalma ve yaşlanma olmak üzere multifaktöriyel olaylara bağlı olan sporadik idiyopatik formlara sahip olduğu için, PH'nın sadece genetik faktörlerle açıklanamayacağı görülmüştür (Bekris ve diğerleri, 2010). Araştırmalar çevresel maruziyetler (sigara dumanı, pestisitler, herbisitler, ağır metaller, endüstriyel kimyasallar) ile genetik faktörlerin etkileşiminin PH gelişimini hızlandırabildiğini göstermektedir (Warner ve Schapira, 2003). PH vakalarının %10 gibi çok küçük bir azınlığı mendelian özellik (Parkin, POLG1, LRRK, SNCA gibi genlerdeki mutasyonlar) olarak bireyden bireye aktarılır (Hardy ve diğerleri, 2009). Örneğin Parkin genindeki mutasyon otozomal resesif ailesel PH'nın en yaygın sebeplerinden birisidir (Kao, 2009). Geçmişten bu yana mendelian formda olan ve ailesel olarak kalıtılan PH ile ilgili toplanmış çok fazla bilgi olmasına rağmen, PH'nın ve oksidatif stresin oluşumundan sorumlu genlerin polimorfizmleriyle ilgili çok az bilgiye sahibiz. Aslında oksidatif stres PH'nın etiolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Parkinsonlu hastalardaki dopaminerjik nöronlar, DNA ve proteinler gibi moleküllerinde oksidatif hasara maruz kalırlar (Sherer ve diğerleri, 2001). DNA onarım mekanizmasındaki ve antioksidan enzim üretimindeki dengenin bozulması ROT'ların tolere edilebilen seviyeden fazla olmasına neden olur ve oksidatif hasarın birikimini artırır (Radak ve diğerleri, 2011). Aşırı ROT miktarı DNA zincir kırıkları, baz değişimi, kromozomal aberasyon gibi oksidatif DNA hasarını tetikleyebilir. DNA hasarından sorumlu bu defektler kanser, immün sistem bozukluğu, nörodejeneratif hastalıklara sebep olabilir (Krokan ve diğerleri, 2013). Nükleik asit hasarı hem çekirdek hem de mitokondrideki bilgiyi değiştirebildiği için hücrel makromoleküllerdeki oksidatif hasarın çeşitli tipleri arasında oldukça tehlikelidir (Cooke ve diğerleri, 2003). 8-oksoG gibi oksidatif DNA lezyonları, yaşlılıkta nükleer ve mitokondriyal genomlarda birikir; PH'sı olanlarda bu birikim önemli ölçüde artabilir (Nakabeppu ve diğerleri, 2007). Oksidatif DNA hasarını onarmak için varolan beş sistemden birisi oksidatif DNA hasarını atmak ve genomun bütünlüğünü onarmaktan sorumlu majör yolak olan BER'dir. BER sistemi içinde yeralan *OGG1*, *XRCC1* ve *MTH1* gibi genlerde meydana gelebilecek polimorfizmlerin onarım kapasitesini ve PH'nın gelişimini

tetiklemesini beklemek oldukça akla uygundur. *MTH1*, 8-okso-2'-deoksiguanozin trifosfat ve 2-hidroksi-2'-deoksiadenozin trifosfat gibi oksitlenmiş pürin nükleozit trifosfatları monofosfat formlarına hidrolize eder (Nakabeppu ve diğerleri, 2007). İnsanda *hOGG1* geni tarafından kodlanan ve DNA onarım enzimlerinden birisi olan *OGG1* enzimi BER'i başlatır (Fukae ve diğerleri, 2005). *XRCC1* geni, iyonize radyasyona ve alkilleyici ajanlara maruz kalma sonucu oluşan DNA baz çıkarma ve tek zincir kırılmalarının onarımında yer alan enzimi kodlar (El-Khamisy ve diğerleri, 2003). Nakabeppu ve arkadaşları dopaminin kaybına neden olabilecek ölçüde, PH'lıların mitokondriyal DNA'sında 8-oksoG'de artış gözlemledikleri gibi hastaların nigrostriatal dopaminerjik nöronlarında *OGG1* ve *MTH1* ekspresyonlarının da önemli ölçüde arttığını bulmuşlardır (Nakabeppu ve diğerleri, 2007).

PH teşhisi konulan kişilerle yapılan *hOGG1* 326Cys allel görülme sıklığının araştırıldığı çeşitli çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Benzer şekilde *XRCC1 Arg399Gln* ve *MTH1 Val83Met* polimorfizmleri ile Parkinson arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda elde edilen sonuçlar da çelişkilidir.

Karahalil ve arkadaşları tarafından Türk populasyonundaki *OGG1 Ser326Cys* polimorfizmi taşıyan sağlıklı bireylerde yapılan çalışmada *Ser/Ser* görülme sıklığı %50, *Ser/Cys* %41 ve *Cys/Cys* ise %9'dur. Bu sonuç Avrupalı beyaz ırk üzerinde çalışmalar yapmış Janssen ve arkadaşlarının (Janssen ve diğerleri, 2001) ile Wikman ve arkadaşlarının (Wikman ve diğerleri, 2000) bulduğu genotip dağılımlarıyla benzerlik göstermektedir. Sugimura ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Çin, Japon Uzak doğu populasyonlarında *Cys* alleli görülme sıklığı Avrupalı beyaz ırkta görülme sıklığından yaklaşık 3 kat daha fazladır (Sugimura ve diğerleri, 1999). Bizim çalışmamıza göre Türk populasyonundaki sağlıklı bireylerde ise; *Ser/Ser* görülme sıklığı %57,7, *Ser/Cys* %34 ve *Cys/Cys* oranı %8,3'tür. Bu verilere göre çalıştığımız birey grubu Avrupa ırkı genotip dağılımı ile benzerlik göstermektedir.

Karahalil ve arkadaşlarının *XRCC1 Arg399Gln* polimorfizmi taşıyan Türk populasyonundaki sağlıklı bireyler üzerine yaptıkları diğer bir çalışma ise *XRCC1* gen allel frekansı görülme sıklığı %60 ve 399Arg polimorfizmi görülme sıklığı %40 olarak bulunmuş ve cinsiyetler arasında fark olmadığı gözlenmiştir (Kocabas ve Karahalil 2006). Bu sonuç Avrupalı beyaz ırktan olan Brezilyalılar üzerine çalışma yapan Rossit ve arkadaşlarının (Rossit ve diğerleri

2002) ve ayrıca yine beyaz Avrupa ırkı olan İtalyan ve Belçika popülasyonlarında çalışmalar yapan sırasıyla Shen ve arkadaşları (Shen ve diğerleri, 2003) ile Wood ve arkadaşlarının (Wood ve diğerleri, 2001) yaptığı çalışmalarda gözlenen allel sıklığı ile aynı aralıktadır. Bizim çalışmamızda ise sağlıklı bireylerde; *Arg / Arg* görülme sıklığı %55,9 , *Arg / Gln* görülme sıklığı %35,5 ve *Gln / Gln* görülme sıklığı 8,6'dır. Bu verilere göre çalıştığımız birey grubu Karahalil ve arkadaşlarının, Rossit ve arkadaşlarının ve Shen ve arkadaşlarının sonuçlarıyla benzerlik göstermekte, çalışma grubumuz Beyaz Avrupa Irkı genotip dağılım kategorisine girmektedir.

MTH1 Val83Met polimorfizmi için; Satoh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yer alan kontrol grubunun allel frekansı görülme sıklığı *Val/Val* genotipi için %88,7 ve 83Met varyantı için görülme sıklığı %11,3'tür. Karahalil ve arkadaşlarının *MTH1 Val83Met* polimorfizmi taşıyan Türk popülasyonundaki sağlıklı bireyler üzerine yaptıkları çalışmalarında *MTH1* yabanıl tip allel frekansı görülme sıklığı %97 ve 83Met polimorfizmi görülme sıklığı %3'tür (Karahalil ve diğerleri, 2011). Bizim çalışmamızda ise sağlıklı bireyler için; *Val / Val* görülme sıklığı %90,4, *Val / Met* görülme sıklığı %9,6 ve *Met/ Met* görülme sıklığı %0'dır. Buna göre çalışma grubumuz Türk popülasyonu üzerinde yapılan daha önceki çalışmalardaki oranlarla benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda Parkinsonlu hasta grubunda *OGG1 Ser326Cys* polimorfizmi için; *Ser/Ser* genotipi için %69,4 , *Ser/Cys* genotipi için %25,3 ve *Cys/Cys* genotipi için %5,3 olarak bulundu. *XRCC1* kodon 399'da *Arg/ Arg* genotipi %35,9, *Arg/ Gln* %43,5 ve *Gln/ Gln* %20,6'dır. Ayrıca Parkinsonlu hasta grubunda *MTH1 Val83Met* polimorfizmi için *Val/Val* genotipi görülme oranı %91,8 , *Val/Met* %8,2 ve *Met/Met* %0'dır.

OGG1 polimorfizminin BER için önemli bir enzim olması nedeniyle mutasyona bağlı çeşitli hastalıkların oluşumuna katkısı merak konusu olmuştur. Örneğin Karahalil ve arkadaşlarının *OGG1 Ser326Cys* varyantının akciğer kanserinin oluşumunu desteklediğine dair pozitif sonuç elde etmişlerdir (Karahalil ve diğerleri, 2012). Keza Alzheimer, ALS ve Hutchinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarla ilgili yapılan çalışmalarda, *hOGG1 Ser326Cys* polimorfizminin ALS ve Hutchinson hastalığı oluşumunda artmış risk oluşturduğu, ancak sporadik Alzheimer riski oluşturmadığı rapor edilmiştir (Coppedè ve diğerleri, 2007; Coppedè

ve diğerleri, 2010). Yine Parıldar Karpuzoğlu ve arkadaşları tarafından Türk popülasyonu üzerine yapılan çalışmada, 91 Alzheimer hastası ve hastalarla uyumlu 93 kontrol grubu kullanılmış, *OGG1 Ser326Cys* polimorfizminin hastalığın oluşumuyla ilişkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Parıldar-Karpuzoğlu ve diğerleri, 2008). Coppede ve arkadaşlarının beyaz ırktan 139 sporadik idiyopatik Parkinson hastası ve bunlarla uyumlu 211 kontrol grubuyla yaptığı çalışma sonucunda PH olanlarda *Cys326* varyant alleli ve kontrol grubu sonuçlarını sırasıyla %20 ve %19 bulmuşlar, hastalar ve kontrollerin allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p=0,817$) ileri sürmüşlerdir (Coppede ve diğerleri, 2010). Bu sonuç daha önce rapor edilmiş Beyaz Avrupa Irka ait çalışma sonuçlarıyla tutarlıdır (Wikman ve diğerleri, 2000; Sugimura ve diğerleri, 1999). Cornetta ve arkadaşları *Cys326* varyant alleli taşıyan hem hasta hem kontrol grubu sonuçları arasında bir fark bulamamışlar, dolayısıyla Parkinson oluşumuyla *OGG1 Ser326Cys* polimorfizmi arasında ilişki kuramamışlardır (Cornetta ve diğerleri, 2013). Benzer şekilde Gencer ve arkadaşlarının İstanbul Üniversitesi hastanesinde yaptığı çalışmada da belirgin bir fark bulunamamıştır (Gencer ve diğerleri, 2012). Tüm bu çalışmalara ilave olarak Fukae ve arkadaşlarının hem progresif supranükleer palsi ve kortikobazal dejenerasyonu olan Parkinsonlu hasta grubunun hem de kontrol grubunun beyinlerini kullanarak yaptıkları immünohistokimyasal ve biyokimyasal çalışmaların sonucunda *hOGG1-1a* ve *hOGG1-2a* olmak üzere iki ana izoformu olan insan dokusundaki *OGG1* enzimlerinin mitokondriyal izoformlarının Parkinsonlu hastalarda daha yüksek ekspresyon seviyesine sahip olduğunu bulmuşlardır. Yaptıkları Western blot analizlerinde PH'lı hastaların SNpc'lerinde *OGG1* seviyelerinin oldukça yüksek olduğunu ortaya çıkarmışlardır (Fukae ve diğerleri, 2005). Sanders ve arkadaşlarının *OGG1* gibi BER genlerinde oluşan SNP'lerinin tek başına mı yoksa bir pestisite maruziyetleri sonucu mu PH riski oluşturduklarını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, *OGG1 rs1052133* gibi BER SNP'lerinin tek başına PH riski oluşturmadığını, ancak paraquat ya da bir pestisit ile tetiklenen oksidatif stres ve mitokondriyal inhibisyonun PH ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Sanders ve diğerleri, 2017). Muralidar ve arkadaşları geçiş metallerinden olan bakır ve demir üzerine çalışma yapmış, bu metallerin dishomeostazı sonucu oksidatif DNA hasarlarının birikimi ile Alzheimer hastalığı ve PH da dâhil olmak üzere insanda çeşitli nörodejeneratif hastalıklara neden olduğunu bulmuşlardır. Bu durumun ROT üreterek DNA bazlarını okside etmesi dikkatlerini çekmiş, bu nedenle memeli genomlarındaki okside olmuş bazların NEIL1, NEIL2 veya *OGG1*

tarafından onarılması üzerine araştırma yapmışlardır. Sonuçta nörodejeneratif hastalıklarda demir ve bakırın aşırı yüklenmesinin hem oksidatif genom hasarını arttırdığını hem de hasarların onarımlarını önlediğini göstermişlerdir (Hegde ve diğerleri, 2010). Ancak bu metallerin *OGG1* enzimine değil, sadece NEIL enzimlerine bağlanarak onarım fonksiyonlarını inhibe ettiklerini bulmuşlardır. Cardozo ve arkadaşları yüksek manganez seviyelerine maruz kalmanın, striatal dopamin içeriğindeki nöronal kayıp ve tükenme de dâhil olmak üzere bazal gangliyada lokalize edilmiş nöropatolojik değişiklikler yarattığını gösteren epidemiyolojik çalışmalardan yola çıkarak fareleri manganeze maruz bırakmışlar, sonuçta dopamin seviyelerinin yabanıl tip farelerin bazal ganglialarında yükseldiğini, *OGG1* varyant farelerin bazal ganglialarında ise azaldığını, buna bağlı olarak orta beyinde 8-oksido-G birikiminin arttığını gözlemlemişlerdir (Cardozo-Pelaez ve diğerleri, 2005). Bizim çalışmamızda da tıpkı Coppede, Cornetta ve Gencer'in yaptıkları çalışmalarında olduğu gibi kodon 326'daki serini sisteine dönüştüren polimorfizmin PH ile ilişkili olmadığı sonucuna vardık. Bunun yanında PH'lılarda *OGG1* Ser326 yabanıl tip genlerin artmış olması (%57,7 iken %69,4'e çıktı) Fukae ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmanın sonucunda olduğu gibi Parkinsonlu hastalarda *OGG1* ekspresyonunun artarak koruyucu pozisyon oluşturabileceğini düşündürdü.

Her ne kadar sigara içimi ve PH riskinin oluşumuyla ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış ve bu çalışmalarda PH'ya yakalanma riski ve sigara içimi arasında ters bir ilişki bulunmuşsa da (Ritz ve diğerleri, 2007; Ma ve diğerleri, 2017); *OGG1* geninin mutant tipini taşıyanlarda sigara, kahve, çay ve alkol tüketiminin PH'ya yatkınlıkta artış sağlayıp sağlamayacağı konusunda daha önce herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Benzer şekilde alkol tüketiminin PH riskini artırdığını savunan çalışmalar olduğu gibi (Eriksson ve diğerleri, 2013), bu ilişkinin çok zayıf olduğunu söyleyen çalışmalar da mevcuttur (Bettioli ve diğerleri, 2015). Munoz ve arkadaşları özellikle ikizler üzerine yapılan çalışmalara atıfta bulunarak genetik etiyolojilere nazaran çevresel faktörlerin Parkinson oluşumunda çok daha baskın bir risk olduğuna işaret etmişler ve kafein tüketiminin riskte çarpıcı bir azalmaya sebep olduğuna dikkat çekmişlerdir. Munoz'a göre bu risk günde dört fincandan fazla kahve içen (sadece kahve değil, kafein içeren çay ve gazlı içecekler de dâhil) kişilerde beş kat daha düşüktür. Munoz, MPTP kaynaklı parkinsonizm üzerindeki kafeinin koruyucu etkisini kanıtlayan deneysel modellerden yola çıkarak randomize kontrollü çalışmayla kafein uyguladıkları PH'lılarda altı

hafta içinde motor hareketlerinde düzelme gözlemlendiğini söylemiştir (Munoz ve Fujioka, 2018). Hindistan’da yapılan çalışmalarda çay ve polifenol içeren diğer içeceklerin tüketiminin hastalık sendromlarında rahatlama sağladığı ve çay uygulanan PH’lı hücre ve hayvan modellerinde nöroproteksiyon sağladığı gösterilmiştir (Dutta ve Mohanakumar, 2015). Bu bulgular, dünyanın belli popülasyonlarında randomize yapılan epidemiyolojik diğer çalışmalarla PH riskini azaltmak için yeşil ve siyah çay içme alışkanlığı edinmeyi desteklemektedir (Caruana ve Vassallo, 2015). Bizim çalışmamızda çevresel faktörlerin PH oluşumuna etkilerine bakıldığında; sigara, kahve, çay içme alışkanlığı olanların ve alkol kullananların *hOGG1* varyant allellerini taşımalarının Parkinson riskini artırmadığı gözlemlendi.

Yapılan çeşitli çalışmalar Parkinson ile diyabet(DM) arasında potansiyel bir ilişki olduğunu vurgulasa da bu konuda daha güçlü kanıtlara ihtiyaç vardır. Yapılan vaka kontrol çalışmalarında DM ve PH arasında bir ilişki bulunmasa da kohort çalışmalarında DM’nin gelecekte PH için bir risk faktörü olduğu bulunmuştur (The Relationship Between Diabetes and Parkinson's Disease, 2018). Her iki hastalıkla ilişkili genetik riskler olabileceği, insülin sinyalleme ve insülin direncinin nörodejenerasyonla ilgili olabileceği fikrinin daha fazla ilgi çekmeye başladığı ve dopaminerjik nöronların ölümünden önce PH hastalarının SN’lerindeki insülin reseptörü mRNA kaybı olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca, glukoz toleransı için resmi olarak test edilen PH’lı hastaların % 50-80’inde insülin direnci tespit edilmiştir (Aviles-Olmos ve diğerleri, 2013). Diğer araştırmacılar Pagano ve Politis ise diyabetik olmayan hastalara kıyasla, tip 2 DM hastalarında PH gelişim riskinin % 38 oranında daha fazla olduğunu iddia etmektedir (Pagano ve diğerleri, 2018, The Relationship Between Diabetes and Parkinson's Disease, 2018). De Pablo-Fernandez ve arkadaşları yaptıkları retrospektif kohort çalışmasının sonucunda Tip 2 DM’yi takiben PH oluşumunun arttığını tespit etmişlerdir (De Pablo-Fernandez ve diğerleri, 2018). Bu bulgu, potansiyel genetik yatkınlığın ve / veya klinik ve terapötik uygulamaların patojenik yollarla oluşturarak PH oluşturabileceğini gösterir. Gönül ve arkadaşları Türk popülasyonunda yaptıkları vaka kontrol çalışmasında yabanıl genotipli bireylerle kıyaslandığında *OGG1 Ser326Cys* polimorfizmi taşıyan bireylerde Tip 2 DM oluşum riskinin istatistiksel olarak 2-3 kat arttığını gözlemlemişlerdir (OO= 1,858,% 95 GA = 1,099-3,141, p = 0,021) (Gönül ve diğerleri, 2012). Çalışmamızda DM’li hastalarda PH oluşum etkilerine bakıldı; *hOGG1* varyant allellerini taşıyanlarda yabanıl tip bireylere göre Parkinson riskinin artmadığı gözlemlendi.

Yaşlılık her ne kadar PH için kanıtlanmış tek faktör olsa da, çalışmamızda 65 yaş ve üzeri bireylerin 326. kodunda Cys varyantı taşımalarının PH oluşum riskini etkilemediği tespit edildi.

Dünya genelinde PH'nın kadın ve erkeklerdeki insidansını konu alan popülasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu insidans çalışmalarının ortaya çıkardığı erkeklerde PH riskinin daha fazla olduğu sonucunu doğrulamak için Wooten ve arkadaşları tarafından bir meta-analiz yapılmıştır. Bu meta analizde erkek ve kadınlar arasındaki PH insidansını konu alan yedi çalışma kullanılmış, sonuçta erkeklerde PH'ya yakalanma riskinin 1,5 kat gibi önemli bir ölçüde kadınlardan fazla olduğu bulunmuştur. Erkeklerdeki bu artmış risk için olası nedenler ise toksik maruziyet, baş travması, kadınlarda östrojenin nörolojik koruması, mitokondriyal disfonksiyon ve genetik risk faktörleridir (Wooten ve diğerleri, 2004). Bizim çalışmamızda ise *OGG1 Ser326Cys* genotip dağılımı ile cinsiyet arasında gerek kadınlar gerekse erkekler için anlamlı bir ilişki bulunamadı.

Rutin olarak mutajenik ve karsinojenik kimyasallara maruz kalmamız nedeniyle oluşan DNA katım ürünleri DNA hasarı oluşturur ve bu hasar DNA onarım enzimleriyle giderildiği için onarım mekanizmasındaki genlerin polimorfizmleri bilim insanlarının fazlasıyla dikkatini çekmektedir. DNA onarım mekanizması BER genlerinden *XRCC1*'nin *Arg399Gln* polimorfizmi Karahalil ve arkadaşlarının tarafından araştırılmış, mesane kanseri olanlarda *Arg399* alleli taşıyanlar ile *Gln399* alleli olanlar arasında mesane kanseri gelişimine duyarlılık açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır [OO: 0,72 (% 95 GA, 0,41-1,26)] (Karahalil ve diğerleri, 2006). Bunun gibi Trabulus ve arkadaşlarının Türk popülasyonu üzerine yaptıkları çalışmada *XRCC1 Arg399Gln* polimorfizminin son dönem böbrek hastalığının(ESRD) gelişimindeki riski arttırdığını gözlemlemişlerdir (Trabulus ve diğerleri, 2012). Nörodejeneratif hastalıklardan Alzheimer'ın oluşumunu araştıran Kwiatkowski ve arkadaşları *XRCC1* polimorfizminin hastalığın meydana gelişinde artmış risk oluşturduğu sonucunu bulsalar da (Kwiatkowski ve diğerleri, 2016), Parıldar Karpuzoğlu ve arkadaşları Türk popülasyonu üzerinde yaptıkları çalışmada, *XRCC1 Arg399Gln* polimorfizminin hastalığın oluşumuyla ilişkisinin olmadığını tespit etmişlerdir (Parıldar-Karpuzoğlu ve diğerleri, 2008). Cornetta ve arkadaşları İtalyan sporadik Parkinsonlu hastalar üzerinde yaptıkları çalışmalarda *XRCC1 Arg399Gln* varyantını taşımanın hastalığın başlangıç yaşıyla

ilişkili olduğunu bulmuşlar, *Arg399* yabanıl tipini taşıyan kadınların ise Parkinsona karşı koruyucu etkiye sahip oldukları sonucuna ulaşmışlardır (Cornetta ve diğerleri, 2013). Benzer şekilde Kaleağası ve arkadaşlarının 71 Parkinson hastası ve 76 kontrol grubu kullanarak Türk popülasyonu üzerine yaptıkları çalışmada *XRCC1* geni *Arg399Gln* polimorfizmi ve PH riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamamışlardır ($p = 0,364$) (Kaleagasi ve diğerleri, 2009). Gencer ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise yapılan diğer iki çalışmanın tersine Türk popülasyonunda *XRCC1* Gln+ allelini taşıyan Parkinson hasta grubunun sayısını kontrol grubundan daha yüksek bulmuşlar (sırasıyla% 31,7 ve% 12,0, $p = 0,002$, ki kare: 9,63, OO: 3,38, % 95 GA = 1,52–7,49), Gln /Gln genotipini taşıyan bireylerde PH oluşum riskinin de artmış olduğunu ifade etmişlerdir (Gencer ve diğerleri, 2012). Bizim çalışmamız Gencer'in çalışmalarıyla benzerlik taşımakta ve Gln allelini taşıyanlarda PH oluşum riski anlamlı şekilde artmaktadır (2,268 kat artmakta). Sadece *Gln/Gln* mutantını taşıyanlarda PH oluşum riskinin 3,742 kat artmış olması ve sadece *Arg/Gln* heterozigot genotipini taşıyanlarda ise 1,91 kat artması PH oluşumunda mutant genlere sahip olmanın daha etkili risk oluşturduğu sonucuna ulaştırmaktadır.

Sigara içimi ve *XRCC1 Arg399Gln* polimorfizminin kanser riskini artırdığına dair çeşitli çalışmalar yapılmışsa da (Shen ve diğerleri, 2005; Zhou ve diğerleri, 2003), bu geninin mutant tipini taşıyanlarda sigara, kahve, çay ve alkol tüketiminin Parkinsona yatkınlıkta artış sağlayıp sağlamayacağı konusunda herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bizim çalışmamızda çevresel faktörlerin Parkinson oluşumuna etkilerine bakıldığında; *Arg399Gln* polimorfizmine sahip kişilerde kahve içme alışkanlığının PH oluşumuna katkı sağlamadığı tespit edildi. Ancak çay içme alışkanlığı olanlarda ve sigara-alkol kullananlarda *XRCC1* varyant allellerini taşıyanlarda, bu tür alışkanlıkları olan yabanıl tip bireylere kıyasla Parkinson riskinin arttığı görüldü.

XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi ile DM arasında potansiyel bir ilişki olmadığına dair çeşitli çalışmalar varsa da bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Her ne kadar Parkinson ile DM arasında potansiyel bir ilişki olduğuna dair yapılan çalışmalara yukarıda değindiyssek de *XRCC1 Arg399Gln* varyantına sahip DM hastalarında PH'nın gelişme riskine dair herhangi bir çalışma yoktur. Bizim çalışmamızda *XRCC1 Arg/Gln* genotipini taşıyan

DM'li heterozigotlarda yabancı tip DM'li bireylere nazaran PH'nın görülme ihtimalinin arttığı tespit edildi.

Yaşlılık ve PH ile ilişkiye baktığımızda çalışmamızda 65 yaş ve üzeri bireylerde *XRCC1 Gln/Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali 4 kat daha fazlaydı.

Çalışmamızda cinsiyet grupları için *XRCC1 Arg399Gln* genotiplerine göre PH görülme ihtimalini incelediğimizde, kadınlar için anlamlı bir sonuç saptanmadı. Erkeklerde Gln varyant alleli taşıyan yaşlı mutant bireylerde PH görülme riskinin anlamlı derecede yükseldiği gözlemlendi.

Genetik polimorfizmler DNA onarım enzimlerini etkileyerek onarım kapasitesini bozarlar ve DNA hasarının birikmesine neden olurlar. Bu durum kompleks hastalıkların oluşumuna katkıda bulunur (Maynard ve diğerleri, 2009). Parkinson, Alzheimer, Hutchinson hastalığı gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklara sahip hastaların beyinlerindeki hem çekirdek hem de mitokondri DNA'sında 8-oksoG seviyesi anlamlı şekilde arttığı için bu hastalıkların etiyolojisinde oksidatif stresin önemli olduğu düşünülmektedir (Shimura-Miura ve diğerleri; Wang ve diğerleri, 2005). BER'in bir diğer önemli enzimi, oksitlenmiş bir pürin nükleozit trifosfataz olan *hMTH1*, 8-okso-dGTP'yi hidrolize ederek DNA'nın yanlış eşleşmesini önler (Mo ve diğerleri, 1992). *MTH1*'in çeşitli hastalıklarla ilişkisi araştırmacıların merakını çekmiştir. Örneğin Sheng ve arkadaşlarının mutant farelerin beyinlerinin striatal bölümlerinde yaptıkları çalışmada *hMTH1* ve *hOGG1*'in nörodejenerasyondan koruyucu etkisi olduğunu göstermişlerdir (Sheng ve diğerleri, 2012). Lida ve arkadaşları beyin tümörlerinde hem 8-Okso-dG'nin akümüülasyonunun hem de *hMTH1*'in ekspresyonunun artmış olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuca göre yüksek dereceli gliomalarda oksidatif stresin, buna bağlı olarak 8-okso-dG birikiminin ve *hMTH1* ekspresyonunun artışı en önemli belirteçlerdir. Bu tür bir oksidatif stres durumunda savunma mekanizmasının da arttığının göstergesidir (Lida ve diğerleri, 2001). Speina ve arkadaşlarının küçük hücreli olmayan akciğer kanseri üzerine yaptıkları çalışmada buldukları sonuca göre; tümör DNA'sındaki 8-okso-G seviyesi normal akciğer dokusundaki DNA'dan daha düşükken, *MTH1* aktivitesi tümör DNA'sında normal doku DNA'sından daha yüksektir. Bu durum *MTH1*'in insan DNA'sının sürekliliğini sağlayıcı bir komponent olduğunu göstermiştir (Speina ve diğerleri,

2005). Nakabeppu ve arkadaşları Parkinson hastalarının nigrostriatal dopaminerjik nöronlarındaki mitokondriyal DNA'da yüksek oranda 8-oksoG olduğu kadar *MTH1*, *OGG1* ve *MUTYH* ekspresyonlarında da anlamlı bir artış olduğunu ve DNA lezyonların birikmesinin dopaminin nöron kaybına neden olabileceğini öne sürmüşler ve yaptıkları çalışmaya bir nörotoksin olan 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridini (MPTP) eklediklerinde çok daha fazla nöronal disfonksiyon birikimi olduğunu görmüşlerdir (Nakabeppu ve diğerleri, 2007). Satoh ve arkadaşları *MTH1 Val83Met* polimorfizmini araştırmak için Japon popülasyonu üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda, kodon 83'teki valini metiyonine dönüştüren polimorfizmin PH ile ilişkili olmadığını savunmuşlardır. Çalışmada 73 sporadik PH ve 151 kontrol grubu kullanılmış, sonuçta 83Val ya da 83Met allelleri arasında hem hastalarda (%92,5 ve %7,5) hem de kontrol gruplarında (%88,7 ve %11,3) istatistiksel olarak anlamlı (ki kare= 1,511, p = 0,2190) bir fark bulunamamıştır (Satoh ve Kuroda, 2000). Çin'de yapılan *MTH1* genine ait başka bir polimorfizm olan Ile45Thr üzerinde yapılan çalışmada ise 106 PH ve 135 kontrol grubu kullanılmış, Ile/Ile genotipine kıyasla Thr45 allellerinin ve Ile45/Thr45 heterozigot sıklığının sporadik Parkinsonlularda daha fazla olduğu gözlenmiştir. Çalışmada araştırmacılar cinsiyetleri de değerlendirmişler, Ile45/ Thr45 heterozigot sıklığının erkek Parkinson hastalarında daha sık olduğunu bulmuşlar ve Ile45Thr varyantının Çinli erkek popülasyonunda sporadik parkinson gelişimiyle ilişkili olabileceğini söylemişlerdir (Jiang ve diğerleri, 2008). Bizim çalışmamız da Satoh ve arkadaşlarının çalışmasıyla benzer sonuçtadır. *MTH1 Val83Met* polimorfizmi taşıyor olmanın Parkinson oluşumu üzerinde anlamlı bir belirleyiciliği olmadığı sonucuna vardık. Ancak Val/Val yabanıl tipin PH'lılarda kontrol grubuna göre az da olsa artmış olması, DNA'nın savunmasından sorumlu bir enzim olan MTH1'in koruyuculuğunu gösterdi.

MTH1 Val83Met polimorfizmini taşıyanlarda sigara, kahve, çay ve alkol tüketiminin Parkinsona yatkınlıkta artış sağlayıp sağlamayacağı konusunda herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bizim çalışmamızda çevresel faktörlerin Parkinson oluşumuna etkilerine bakıldığında; sigara, çay içenlerde ve alkol kullananlarda *MTH1* varyant allellerini taşımalarının PH riskini artırmadığı gözlemlendi. Ancak çalışmamızda kahve içme alışkanlığı olan birey sayısı yetersiz olduğu için PH'ya etkisi değerlendirilemedi.

Miyako ve arkadaşlarının *hMTH1* geni *Val83Met* polimorfizminin Tip 1 DM ile ilişkili olup olmadığını incelemişlerdir. Kodon 83'teki *Met / Met* genotipinin hem kontrol hem de hasta grubunda çok nadir olduğunu, *Val / Met* genotipinin tüm tip 1 DM hastalarında kontrollere göre daha sık olduğunu, bireyler cinsiyete göre alt gruplara ayrıldığında, erkeklerde genotip ve allel frekanslarında hastalar ve kontroller arasında fark olmadığını, öte yandan kadın tip 1 diyabetik hastalarda, *Val / Met* genotipinin (düzeltilmiş $p = 0,102$) ve *Met* allelinin kadın kontrollerden daha sık olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuçlar, *MTH1* geninin 83 kodonundaki *Met* allelinin, Japon kadın popülasyonunda tip 1 DM gelişiminde rol oynayabileceğini göstermiştir (Miyako ve diğerleri, 2004). Ancak DM hastalarında *Val83Met* polimorfizmi nedeniyle PH gelişim riskinin olup olmadığına ilk kez bizim çalışmamızda yer verilecek olsa da birey sayısı yeterli olmadığı için analiz edilemedi. Hem DM'li olan hem de *hMTH1* varyant allellerini taşıyan bireylerde PH riskinin artıp artmadığı sorusu başka bir çalışmaya bırakıldı.

Çalışmamızda 65 yaş ve üzeri bireylerin *Val83Met* polimorfizmini taşımalarının PH oluşum riskini etkilemediği tespit edildi. Aynı şekilde cinsiyet grupları içerisinde gerek kadınlar gerekse erkekler için PH varlığı ve *Val83Met* genotip dağılımı arasında bir ilişki bulunamadı.



6. SONUÇ

Çalışmamızda incelediğimiz *OGG1 Ser326Cys*, *XRCC1 Arg399Gln* ve *MTH1 Val83Met* gen polimorfizmlerinin kontrol grubundaki dağılımlarının yapılmış diğer çalışmalarda Beyaz Avrupa Irkı ile benzerlik gösterdiği görüldü (*hOGG1* polimorfizmi için *Ser/Ser* görülme sıklığı %57,7, *Ser/Cys* %34 ve *Cys/Cys* oranı %8,3 ; *XRCC1 Arg399Gln* polimorfizmi için *Arg / Arg* görülme sıklığı %55,9 , *Arg / Gln* görülme sıklığı %35,5 ve *Gln / Gln* görülme sıklığı 8,6 ; *MTH1 Val83Met* polimorfizmi için *Val / Val* görülme sıklığı %90,4 , *Val / Met* görülme sıklığı %9,6 ve *Met/ Met* görülme sıklığı %0'dır).

Çalışmamız sonucunda *hOGG1* kodon 326'daki *Ser/Cys* polimorfizmlerinin PH'nın meydana gelme riski ile arasında ilişki tespit edilemedi (*Ser/Ser* genotipi için %69,4, *Ser/Cys* genotipi için %25,3 ve *Cys/Cys* genotipi için %5,3'tür). Yaş ve cinsiyet gibi biyolojik faktörlerin yanısıra çevresel faktör olarak sigaranın ve PH varlığı üzerinde etkili olabileceği düşünülen DM gibi klinik faktörlerin sabit tutulması da *Ser326Cys* polimorfizminin Parkinsonun oluşumu üzerinde etkili olmadığı sonucunu değiştirmedir. Ancak PH'lılarda *OGG1 Ser326* yabanıl tip genin artmış olması, ileri çalışmalarda DNA savunma mekanizması enzimi *OGG1*'in nörodejeneratif hastalıklarda genomik stabiliteyi artırmaya çalışan nöroprotektif bir komponent olarak çalışıp çalışmadığını araştırmak gerektiğini düşündürdü.

Çalışmamız sonucunda *XRCC1* kodon 399'da *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali yaklaşık 2 kat (%95 GA: 1,013-3,603), *Gln / Gln* genotipini taşıyanlarda ise PH'nın görülme ihtimali yaklaşık 4 kat (%95 GA: 1,470-9,525) arttı ($p=0,046$ ve $p=0,006$; sırasıyla). Ayrıca, *Arg / Arg* genotipini taşıyanlara göre *Arg / Gln* veya *Gln / Gln* genotiplerini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali yaklaşık 2,3 kat (%95 GA: 1,256-4,094) arttı ($p=0,007$). Bu durum PH'nın oluşumu açısından *Gln/Gln* mutant genotipi taşımanın *Arg/Gln* heterozigot varyantı taşımaktan daha riskli olduğunu göstermiştir. Yaş ve cinsiyet gibi biyolojik faktörlerin yanısıra çevresel faktör olarak sigaranın ve PH varlığı üzerinde etkili olabileceği düşünülen DM gibi klinik faktörlerin sabit tutulması ile de *Arg / Gln* genotipini taşıyor olmanın PH varlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi görülmezken [OO=1,769 (%95 GA: 0,884-3,538) ve $p=0,107$], *Gln / Gln* genotipini taşıyanlarda PH'nın görülme ihtimali istatistiksel olarak anlamlılık 3,772 kat (%95 GA: 1,380-10,310) arttı ($p=0,010$).

Çalışmamız sonucunda *hMTH1* kodon 83'teki *Val/Met* polimorfizmlerinin Parkinson hastalık oluşturma riski ile arasında ilişki tespit edilememiştir (*Val83Met* polimorfizmi için *Val/Val* genotipi görülme oranı %91,8, *Val/Met* %8,2 ve *Met/Met* %0'dır). Ancak *Val/Val* yabancıl tipi, PH'lılarda kontrol grubuna göre az da olsa artış göstermiş, bu durum PH'nın her ne kadar oksidatif strese bağlı DNA onarım aktivitesinin düşmesi nedeniyle oluştuğunu bilsek de, tıpkı *OGG1* ekspresyonunda olduğu gibi, PH'nın *MTH1* DNA onarım geninin ekspresyonunu artıran bir parametre olduğunu düşünmemize sebep olmuştur. Yaş ve cinsiyet gibi biyolojik faktörlerin yanısıra çevresel faktör olarak sigaranın ve PH varlığı üzerinde etkili olabileceği düşünülen DM gibi klinik faktörlerin sabit tutulması da *Val83Met* polimorfizminin Parkinsonun oluşumu üzerinde etkili olmadığı sonucunu değiştirmedir.

Sonuç olarak, oksidatif hasar sonucu DNA'da meydana gelen hasarın PH için bir risk faktörü olması muhtemeldir, bu da dâhil olan savunma mekanizmalarının sağlam bir şekilde anlaşılmasının ve beyni oksidatif strese karşı korumak için yeni stratejiler geliştirmemizin ne denli önem arzettiğini göstermektedir. Örneğin çalışmamıza dayanarak, *XRCC1* 399. kodondaki Gln varyantının artmış olması genetik instabilitenin de arttığını ve bu instabilizasyonu ve genomik kararsızlığı giderecek onarım aktivitesinin azaldığını düşündürmektedir. Genel olarak, bu bulgular nörodejenerasyona neden olan nöronal DNA hasarının birikimini önlemek için DNA onarım mekanizması BER enzimlerinin ne derece önemli olduğunu anlatmaktadır.

Bizim çalışmamızda olduğu gibi DNA onarım enzimleri üzerine yapılabilecek bu ve benzeri çalışmalar PH'nın etiyolojisi ve patofizyolojisini daha iyi anlamamıza imkân sağlayabilir, erken müdahaleye zemin hazırlayabilir ya da ilerlemesini yavaşlatabilecek ilaçların üretilebileceği ümidini doğurabilir. Parkinson gelişiminde *OGG1*, *XRCC1* ve *MTH1* genlerindeki polimorfizmlerin etkilerinin daha ileri çalışmalarla ortaya çıkarılması, PH'nın gelişiminde genetik faktörlerin oynadığı rolün anlaşılabilmesini kolaylaştırabilir. Bu ise gelecek yıllarda hayat süresinin daha da uzamasıyla görülme sıklığı tüm dünyada artacak

olan bu nörodejeneratif hastalığa karşı hem şu an yok gibi görünen tedavi yaklaşımlarının değişmesine, hem de ülkelerin ekonomisine katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Akbari, M., Pena-Diaz, J., Andersen, S., Liabakk, N.B., Otterlei, M., and Krokan, H.E. (2009). Extracts of proliferating and non-proliferating human cells display different base excision pathways and repair fidelity. *DNA Repair (Amst)*, 8 (7),834–843.
- Alarcón, D., Recasens, A., Galofré, M., Carballo-Carbajal, I., Zacchi, N., Ruiz-Bronchal, E., Pavia-Collado R., Chica, R., Ferrés-Coy, A., Santos, M, Revilla R., Montefeltro, A., Fariñas, I., Artigas, F., Vila, M., and Bortolozzi, A. (2018). Selective α -Synuclein Knockdown in Monoamine Neurons by Intranasal Oligonucleotide Delivery: Potential Therapy for Parkinson's Disease. *Molecular Therapy*, 550-567.
- Allan, C. (2007). Awakenings by oliver sacks. *Medical Classic*, 334 (7604).
- Allison, L. A. (2014). *Temel moleküler biyoloji* (Çeviri Ed: Prof. Dr. Ali Osman Beldüz), Ankara: Palme Yayıncılık,
- Almeida, K.H., Sobol, R.W. (2007). A unified view of base excision repair: lesion-dependent protein complexes regulated by post-translational modification. *DNA Repair (Amst)*, 6 (6),695–711.
- Amor, S., Peferoen, L., Vogel, D., Breur, M., van der Valk, P., Baker, D., van Noort, JçM. (2013). Inflammation in neurodegenerative diseases – an update. *Immunology*, 142 (2), 151-166.
- Amor, S., Puentes, F., Baker, D., and van der Valk, P. (2010). Inflammation in neurodegenerative diseases. *Immunology*, 129 (2),154-69.
- Aviles-Olmos, I., Limousin, P., Lees, A., and Foltynie, T. (2013). Parkinson's disease, insulin resistance and novel agents of neuroprotection. *Brain*, 136 (Pt 2), 374-84.
- Aydın A. (2015, 21-24 Ekim). *Oksidanlar&Antioksidanlar*. Turkheltox Toksikoloji Kongresi'nde sunuldu, İzmir, Türkiye.
- Ba, X., Boldogh, I. (2018). 8-Oxoguanine DNA glycosylase 1: Beyond repair of the oxidatively modified base lesions. *Redox Biology*, 14, 669-678.
- Babusikova, E., Evinova, A., Hatok, J., Dobrota, D., and Jurecekova, J. (2013). Oxidative Changes and Possible Effects of Polymorphism of Antioxidant Enzymes in Neurodegenerative Disease. Kishore. *Neurodegenerative Diseases*, 978,421-439.
- Baute, J., Depicker, A. (2008). Base excision repair and its role in maintaining genome stability. *Critical Reviews of Biochemistry and Molecular Biology*, 43 (4),239-76.
- Bekris, L.M., Mata, I.F., and Zabetian, C.P. (2010). The genetics of Parkinson disease. *Journal of Geriatric Psychiatry Neurology*, 23 (4), 228-42.
- Bertler, A., Rosengren, E. (1959). Resource Occurrence and distribution of dopamine in brain and other tissues. *Experientia*, 15 (1), 10-1.

- Bettioli, S.S., Rose, T.C., Hughes, C.J., and Smith L.A. (2015). Alcohol Consumption and Parkinson's Disease Risk: A Review of Recent Findings. *Journal of Parkinson's Disease*, 5 (3), 425-42.
- Boer, J., Hoeijmakers, J.H. (2000). Nucleotide Excision Repair and Human Syndromes. *Carcinogenesis*, 21 (3), 453-60.
- Boiteux, S., Gellon, L., and Guibourt, N. (2002). Repair of 8-oxoguanine in *Saccharomyces cerevisiae*: interplay of DNA repair and replication mechanisms. *Free Radical Biology of Medicine*, 32 (12), 1244-53.
- Bolisetty, S., Jaimes, E.A. (2013). Mitochondria and reactive oxygen species: physiology and pathophysiology. *International Journal of Molecular Sciences*, 14 (3), 6306-44.
- Bonifati, V., Rizzu, P., Squitieri, F., Krieger, E., Vanacore, N., van Swieten, J.C., Brice, A., van Duijn, C.M., Oostra, B., Meco, G., and Heutink, P. (2003). DJ-1 (PARK7), a novel gene for autosomal recessive, early onset parkinsonism. *Neurological Science*, 24 (3), 159-60.
- Bravard, A., Vacher, M., Moritz, E., Vaslin, L., Hall, J., Epe, B., and Radicella, J.P. (2009). Oxidation status of human OGG1-S326C polymorphic variant determines cellular DNA repair capacity. *Cancer Research*, 69 (8), 3642–3649.
- Bravard, A., Vacher, M., Moritz, E., Vaslin, L., Hall, J., Epe, B., Radicella, J.P. (2009). Oxidation status of human OGG1-S326C polymorphic variant determines cellular DNA repair capacity. *Cancer Research*, 3642–3649.
- Brem, R., Hall, J. (2005). XRCC1 is required for DNA single-strand break repair in human cells. *Nucleic Acids Research*, 33 (8), 2512-20.
- Bruner, S.D., Norman, D.P., and Verdine, G.L. (2000). Structural basis for recognition and repair of the endogenous mutagen 8-oxoguanine in DNA. *Nature*, 403 (6772), 859-66.
- Büeler H. (2009). Impaired Mitochondrial Dynamics and Function in the Pathogenesis of Parkinson Disease. *Experimental Neurology*, 218, 235-246.
- Cai, Y., Arikath, J., Yang, L., Guo, M.L., Periyasamy, P., and Buch, S. (2016). Interplay of endoplasmic reticulum stress and autophagy in neurodegenerative disorders. *Autophagy*, 12 (2), 225-44.
- Calabrese, V., Lodi, R., Tonon, C., D'Agata, V., Sapienza, M., Scapagnini, G., Mangiameli, A., Pennisi G., Stella, A.M., and Butterfield, D.A. (2005). Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia. *Neurological Science*, 233, 145-162.

- Caminiti, S.P., Presotto, L., Baroncini, D., Garibotto V., Moresco, R.M., Gianolli, L., Volonté, M.A., Antonini, A., and Perani, D. (2007). Axonal damage and loss of connectivity in nigrostriatal and mesolimbic dopamine pathways in early Parkinson's disease. **Neuroimage Clinical**, 14,734-740.
- Candeias, L.P., Steenken, S. (2000). Reaction of HO* with guanine derivatives in aqueous solution: formation of two different redox-active OH-adduct radicals and their unimolecular transformation reactions. Properties of G (-H)*. **Chemistry**, 6 (3), 475–484.
- Cardozo-Pelaez, F., Cox, D.P., and Bolin, C. (2005). Lack of the DNA repair enzyme OGG1 sensitizes dopamine neurons to manganese toxicity during development. **Gene Expression**, 12 (4-6), 315-23.
- Caruana, M., Vassallo, N. (2015). Tea Polyphenols in Parkinson's Disease. **Advances Experimental Medicine and Biology**, 863, 117-37.
- Celardo, I., Costa, A. C., Lehmann, S., Jones, C., Wood, N., Mencacci, N.E., Mallucci, G.R., Loh, S.H., and Martins, L.M. (2016). Mitofusin-mediated ER stress triggers neurodegeneration in pink1/parkin models of Parkinson's disease. **Cell Death Disorders**, 7 (6), e2271.
- Chatterjee, N., Lin, Y., and Wilson, J.H. (2016). Fanconi anemia pathway regulates convergent transcription-induced cell death at trinucleotide repeats in human cells. **PostDoc Journal**, 4 (5), 46–54.
- Chatterjee, N., Walker, G. (2017). Mechanisms of DNA damage, repair and mutagenesis. **Environmental Molecular Mutagenesis**, 58 (5), 235–263.
- Chevillard, S., Radicella, J.P. (1998). Mutations in OGG1, a gene involved in the repair of oxidative DNA damage, are found in human lung and kidney tumours. **Oncogene**, 16 (23):3083-6.
- Cleaver, J.E. (2016). Profile of Tomas Lindahl, Paul Modrich, and Aziz Sancar, 2015 Nobel Laureates in Chemistry. **PNAS**, 113 (2), 242-245.
- Connolly B.S., Lang A.E. (2014). Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. **JAMA**, 311 (16), 1670-83.
- Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroglu, M., and Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. **FASEB Journal**, 17 (10),1195–1214.
- Coppedè, F., Ceravolo, R., Migheli, F., Fanucchi, F., Frosini, D., Siciliano, G., Bonuccelli, U., and Migliore, L. (2010) . The hOGG1 Ser326Cys polymorphism is not associated with sporadic Parkinson's disease. **Neuroscience Letters**, 473 (3),248-51.

- Coppedè, F., Mancuso, M., Lo Gerfo, A., Carlesi, C., Piazza, S., Rocchi, A., Petrozzi, L., Nesti, C., Micheli, D., Bacci, A., Migliore, L., Murri, L., and Siciliano, G. (2007). Association of the hOGG1 Ser326Cys polymorphism with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. **Neuroscience Letters**, 420 (2),163-8.
- Coppedè, F., Mancuso, M., Lo Gerfo, A., Manca, M.L., Petrozzi, L., Migliore, L., Siciliano, G., and Murri, L.A. (2007). Ser326Cys polymorphism in the DNA repair gene hOGG1 is not associated with sporadic Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, 414 (3),282-5.
- Coppedè, F., Migheli, F., Ceravolo, R., Bregant, E., Rocchi, A., Petrozzi, L., Unti, E., Lonigro, R., Siciliano, G., and Migliore, L. (2010). The hOGG1 Ser326Cys polymorphism and Huntington's disease. **Toxicology**, 278 (2),199-203.
- Cornetta, T., Patrono, C., Terrenato, I., De Nigris, F., Bentivoglio, A.R., Testa, A., Palma, V., Poggioli, T., Padua, L., Cozzi, R. (2013). Epidemiological, clinical, and molecular study of a cohort of Italian Parkinson disease patients: association with glutathione-S-transferase and DNA repair gene polymorphisms. **Cellular and Molecular Neurobiology**, 33 (5),673-80.
- de Lau, L.M., Breteler, M.M. / (2006). Epidemiology of Parkinson's disease. **Lancet Neurology**, 5 (6), 525-35.
- De Martinis, B.S., Bianchi, M.D.L.P. (2002). Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by HPLC with electrochemical detection. **Pharmacological Research**, 46 (2), 129-131.
- De Pablo-Fernandez, E., Goldacre, R., Pakpoor, J., Noyce, A.J., Warner, T.T. (2018). Association between diabetes and subsequent Parkinson disease: A record-linkage cohort study. **Neurology**, 91 (2), e139-e142.
- Dianov, G.L., Hubscher, U. (2013). Mammalian base excision repair: the forgotten archangel. **Nucleic Acids Research**, 41 (6),3483–3490.
- Dias, V., Junn, E., Mouradian, M.M. (2013). The role of oxidative stress in Parkinson's disease. **Journal Parkinson's Disease**, 3 (4),461-91.
- Ding, Y., Chen, J., Okon, I.S., Zou, M.H., and Song, P. (2016). Absence of AMPK α 2 accelerates cellular senescence via p16 induction in mouse embryonic fibroblasts. **International Journal Biochemistry and Cell Biology**, 71,72-80.
- Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M., and Rodriguez, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. **Free Radical Biology of Medicine**, 32 (11), 1102-15.
- Dizdaroglu, M., Kirkali, G., and Jaruga, P. (2008). Formamidopyrimidines in DNA: mechanisms of formation, repair, and biological effects. **Free Radical Biology and Medicine**, 45 (12),1610–1621.

- Dorsey, E.R., Constantinescu, R., Thompson J.P., Biglan, K.M., Holloway R.G., Kieburtz K., Marshall, F.J., Ravina, B.M., Schifitto, G., Siderowf, A., and Tanner, C.M. (2007). Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. **Neurology**, 68 (5), 384-6.
- Durmus, H., Gokalp, M.A., and Hanagasi, H.A. (2015). Prevalence of Parkinson's disease in Baskale, Turkey: a population based study. **Neurological Sciences**, 36 (3), 411-3.
- Dutta, D., Mohanakumar, K.P. (2015). Tea and Parkinson's disease: Constituents of tea synergize with antiparkinsonian drugs to provide better therapeutic benefits. **Neurochemistry International**, 89,181-90.
- El-Khamisy, S.F., Masutani, M., Suzuki, H., and Caldecott, K.W. (2003). A requirement for PARP-1 for the assembly or stability of XRCC1 nuclear foci at sites of oxidative DNA damage. **Nucleic Acids Research**, 31(19), 5526-5533.
- Eriksson, A.K., Löfving, S., Callaghan, R.C., and Allebeck, P. (2013). Alcohol use disorders and risk of Parkinson's disease: findings from a Swedish national cohort study 1972–2008. **BMC Neurology**, 13,190.
- Farrer, M., Kachergus, J., Forno, L., Lincoln, S., Wang DS, Hulihan M, Maraganore D, Gwinn-Hardy, K., Wszolek, Z., Dickson, D., and Langston, J.W. (2004). Comparison of kindreds with parkinsonism and alpha synuclein genomic multiplications. **Annals of Neurology**, 55, 174–179.
- Ferreira_M., Massano_ J. (2017). An updated review of Parkinson's disease genetics and clinicopathological correlations. **Acta Neurologica Scandinavica**, 3, 273-284.
- Fischer, R., Maier, O. (2015). Interrelation of oxidative stress and inflammation in neurodegenerative disease: role of TNF. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 610813.
- Fishel, R. (2015). Mismatch repair. **The Journal of Biological Chemistry**, 290 (44),26395-403.
- Friedberg, E.C. (2015). A history of the DNA repair and mutagenesis field: The discovery of base excision repair. **DNA Repair (Amst)**, 37,A35-9.
- Friedberg, E.C., Walker, G.C., Siede, W., and Wood, R.D. (Eds.). (2006). **DNA Repair and Mutagenesis**, Washington: 2,ASM Press, 118.
- Fukae, J., Takanashi, M., Kubo, S., Nishioka, K., Nakabeppu, Y., Mori, H., Mizuno, Y., and Hattori, N. (2005). Expression of 8- oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders. **Acta Neuropathologica**, 109(3),256-62.

- Furuichi, M., Yoshida, M.C., Oda, H., Tajiri, T., Nakabeppu, Y., Tsuzuki, T., and Sekiguchi M. (1994). Genomic structure and chromosome location of the human MutT homologue gene MTH1 encoding 8-oxo-dG TPase for prevention of A:T to C:G transversion. **Genomics**, 1, 485-490.
- Gan-Or, Z., Dion, P., and Rouleau, G.A. (2015). Genetic perspective on the role of the autophagy-lysosome pathway in Parkinson disease. **Autophagy**, 11 (9), 1443–1457.
- Gao, H.M., Zhang, F., Zhou, H., Kam, W., Wilson, B., and Hong, J.S. (2011). Neuroinflammation and α -synuclein dysfunction potentiate each other, driving chronic progression of neurodegeneration in a mouse model of Parkinson's disease. **Environmental Health Perspective**, 119 (6),807-14.
- Gautier, C. (2000). Compositional bias in DNA. **Current Opinion in Genetics and Development**, 10 (6),656–661.
- Gazewood, J.D., Richard, D.R., and Clebak, K. (2013). Parkinson Disease: an update. **American Family Physician**, 87 (4), 267-273.
- Gencer, M., Dasdemir, S., Cakmakoglu, B., Cetinkaya, Y., Varlibas, F., Tireli, H., Kucukali, C.I., Ozkok, E., Aydin, M. (2012). DNA repair genes in Parkinson's disease. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**, 16 (6),504-7.
- Ginsberg, G., Guyton, K., and Sonawane, B. (2011). Polymorphism in the DNA repair enzyme XRCC1: Utility of current database and implications for human health risk assessment. **Mutation Research**, 727 (1-2), 1-15.
- Goederta, M., Jakes, R., and Spillantini, M.G. (2017). The Synucleinopathies: Twenty Years On.The **Journal of Parkinson's Disease**, 7 (s1),S51-S69.
- Gönül, N., Kadioglu, E., Kocabaş, N.A., Ozkaya, M., Karakaya, A.E., and Karahalil, B. (2012). The role of GSTM1, GSTT1, GSTP1, and OGG1 polymorphisms in type 2 diabetes mellitus risk: a case-control study in a Turkish population. **Gene**, 505 (1),121-7.
- Hardy, J., Lewis, P., Revesz, T., Lees, A., and Paisan-Ruiz, C. (2009). The genetics of Parkinson's syndromes: a critical review. **Current Opinion in Genetics and Development**, 19 (3),254-65.
- Hegde, M.L., Hegde, P.M., Holthauzen, L.M., Hazra, T.K., Rao, K.S., and Mitra, S. (2010). Specific Inhibition of NEIL-initiated repair of oxidized base damage in human genome by copper and iron: potential etiological linkage to neurodegenerative diseases. **The Journal of Biological Chemistry**, 285 (37),28812-25.
- Hipkiss, A.R. (2007). Biological aspects of ageing. **El Sevier Psychiatry**, 6(12), 476-79,
- Hofman, F.M., Hinton, D.R., Johnson, K., and Merrill, J.E. (1989). Tumor necrosis factor identified in multiple sclerosis brain. **Journal Experimental Medicine**, 170 (2), 607-12.
- Holdorff, B., Rodrigues e Silva, A.M., and Dodel, R. (2013). Centenary of Lewy bodies (1912-2012). **Journal of Neural Transmission**, 120 (4),509-16.

- Hou, Y., Zhang, J., Chen, B., and Wu, T. (2015). Local brain activity in different motor subtypes of Parkinson's disease with Fmri. **Europe PMC**, 95(7), 483-8.
- Howlett, E.H., Jensen, N., Belmonte, F., Zafar, F., Hu, X., Kluss, J., Schüle, B., Kaufman, B.A., Greenamyre, J.T., and Sanders, L.H. (2017). LRRK2 G2019S-induced mitochondrial DNA damage is LRRK2 kinase dependent and inhibition restores mtDNA integrity in Parkinson's disease. **Human Molecular Genetics**, 26 (22),4340-4351.
- Hu, Z.Y., Chen, B., Zhang, J.P., and Ma, Y.Y. (2017). Up-regulation of autophagyrelated gene 5 (ATG5) protects dopaminergic neurons in a zebrafish model of Parkinson's disease. **Journal of Biological Chemistry**, 292(44), 18062-18074.
- Huang, E., Qu, D., Huang, T., Rizzi, N., Boonying, W., Krolak, D., Ciana, P., Woulfe, J., Klein, C., Slack, R.S., Figeys, D., and Park, D.S. (2017). PINK1-mediated phosphorylation of LETM1 regulates mitochondrial calcium transport and protects neurons against mitochondrial stress. **Nature Communication**, 8 (1), 1399.
- Huffman, J.L., Sundheim, O., and Tainer, J.A. (2005). DNA base damage recognition and removal: new twists and grooves. **Mutation Research**, 577 (1–2), 55–76.
- Hughes, D.L., Richards, R.S., and Lexis, L.A. (2018). Luminescence. Using chemiluminescence to determine whole blood antioxidant capacity in rheumatoid arthritis and Parkinson's disease patients. **Luminescence**, 33 (4), 764-770.
- Hybertson, B., Gao, B., Bose, S., and McCord, J.M. (2011). Oxydative Stress in Health and Disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 32, 234-246.
- Ingelsson M. (2016). Alpha-Synuclein Oligomers—Neurotoxic Molecules in Parkinson's Disease and Other Lewy Body Disorders. **Frontier Neuroscience**, 10: 408.
- İnternet: A Kind of Alaska. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fmedhum.med.nyu.edu%2Fview%2F12843.+&date=2019-02-04>, Son Erişim Tarihi: 19. 05. 2018.
- İnternet: Denizdurduran, B., Elibol R. Striatal Nöral Mikrodevre. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.simmag.itu.edu.tr%2Fprojeler.html%2C+&date=2019-01-28>, Son Erişim Tarihi: 16.05. 2018-b.
- İnternet: Levodopa. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fpubchem.ncbi.nlm.nih.gov%2Fcompound%2Flevodopa%23section%3DTop%2C+&date=2019-01-28>, Son Erişim Tarihi 14.5.2018.
- İnternet: Natioanal Center for Biotechnology Information 2018. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fgene%3Fterm%3D+%28xrcc1+%5Bgene%5D%29%2520AND%2520+%28Homo%2520sapiens+%5Borgn%5D%29%2520AND%2520alive+%5Bprop%5D%2520NOT%2520Onewentry+%5Bgene%5D%26sort%3Dweight+&date=2019-02-04> Son Erişim Tarihi 14.5.2018.

Internet: National Center for Biotechnology Information 2018. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F26561006&date=2019-02-04>, Son erişim tarihi: 18.11.2018.

Internet: National Center for Biotechnology Information 2018. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F26561006&date=2019-02-04>, Son Erişim Tarihi 14.5.2018.

Internet: Polymerase Chain Reaction (PCR). URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F26561006&date=2019-02-04> Son Erişim Tarihi 14.5.2018.

Internet: Principle of the PCR 1999. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fusers.ugent.be%2F%7Eavirstr%2Fprinciples%2Fpcr.html&date=2019-02-04>, Son Erişim Tarihi 14.5.2018.

Internet: The Relationship Between Diabetes and Parkinson's Disease. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.movementdisorders.org%2FMD%2FScientific-Issues-Committee-Blog%2FThe-Relationship-Between-Diabetes-and-Parkinsons-Disease.htm+&date=2019-01-25>, Son Erişim Tarihi 14.5.2018.

Internet: U.S National Library of Medicine 2018 URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fghr.nlm.nih.gov%2Fgene%2F26561006&date=2019-02-04>, Son erişim tarihi: 25.12.2018. .

Internet: U.S National Library of Medicine 2018. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fghr.nlm.nih.gov%2Fgene%2F26561006&date=2019-02-04>, Son erişim tarihi: 26.12.2018.

Jacobs, A.L., Schar. P. (2012). DNA glycosylases: in DNA repair and beyond. **Chromosoma**, 121 (1),1–20.

Janssen, K., Schlink, K., Götte, W., Hippler, B., Kaina, B., Oesch, F. (2001). DNA repair activity of 8-oxoguanine DNA glycosylase 1 (OGG1) in human lymphocytes is not dependent on genetic polymorphism Ser326/Cys326. **Mutation Research**, 486:207–216.

Jiang, G., Xu, L., Wang, L., Song, S., Zhu, C. (2008). Association Study of Human MTH1 Ile45Thr Polymorphism with Sporadic Parkinson's Disease. **European Journal of Neurology**, 59 (1-2),15–17.

Kaleagasi, H., Edgunlu, T.G., Erdal, M.E., Dogu, O. (2009). The Arg399Gln Polymorphism in DNA Repair Gene XRCC1 Does Not Alter Risk of Parkinson's Disease. **Journal of Neurological Sciences**, 26 (2).

Kalia, L.V., Lang, A.E. (2015). Parkinson's Disease. **Lancet**, 386 (9996),896-912.

- Kao, S.Y. (2009). Regulation of DNA repair by parkin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 382(2), 321-5.
- Karahalil, B, Kocabaş, N.A (2005). hOGG1 SER326CYS genetic polymorphism in a Turkish population, *International Journal of Toxicology*, 25,419-422.
- Karahalil, B., Bohr, V. A., and Wilson, D. M. (2012). Impact of DNA polymorphisms in key DNA base excision repair proteins on cancer risk. *Human and Experimental Toxicology*, 31 (10), 981–1005.
- Karahalil, B., Kesimci E., Emerce, E., Gumus, T., and Kanbak, O. (2011). The impact of OGG1, MTH1 and MnSOD gene polymorphisms on 8-hydroxy-2-deoxyguanosine and cellular superoxide dismutase activity in myocardial ischemia–reperfusion. *Molecular Biology Reports*, 38,2427–2435.
- Karahalil, B., Kocabas, N.A., and Özçelik, T. (2006). DNA repair gene polymorphisms and bladder cancer susceptibility in a Turkish population. *Anticancer Research*, 26 (6C),4955-8.
- Kennedy, C.H., Cueto, R., Belinsky, S.A., Lechner, J.F., and Pryor, W.A. (1998). Overexpression of hMTH1 mRNA: A molecular marker of oxidative stress in lung cancer cells. *FEBS Letters*, 429, 17-20.
- Kim, G., Kim, J.E., Rhie, S., and Yoon, S. (2015). The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Experimental Neurobiology*, 24 (4), 325-340.
- Klug, W.S., Cummings, M.R., and Spencer, C.A. (2011). *Genetik kavramlar*. Ankara: Palme Yayıncılık.
- Kocabas, N.A., Karahalil, B. (2006). XRCC1 Arg399Gln Genetic Polymorphism in a Turkish Population. *International Journal of Toxicology*, 25, 419–422.
- Krokan, H.E., Bjoras, M. (2013). Base excision repair. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5 (4),a012583.
- Kwiatkowski, D., Czarny, P., Toma, M., Jurkowska, N., Sliwinska, A., Drzewoski, J., Bachurska, A., Szemraj, J., Maes, M., Berk, M., Su, K.P., Galecki, P., and Sliwinski, T. (2016). Associations between DNA Damage, DNA Base Excision Repair Gene Variability and Alzheimer's Disease Risk. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 41 (3-4),152-71.
- Langston, J.W., Ballard, P., Tetrud, J.W., and Irwin, I. (1983). Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science*, 219 (4587), 979-80.
- Lauritzen, K.H., Cheng, C., Wiksen, H., Bergersen, L.H., and Klungland, A. (2011). Mitochondrial DNA toxicity compromises mitochondrial dynamics and induces hippocampal antioxidant defenses. *DNA Repair (Amst)*, 639–653.

- Lee, K.H., Lee, J.S., Nam, J.H., Choi, C., Lee, M.C., Park, C.S., Juhng, S.W., and Lee, J.H. (2011). Promoter methylation status of hMLH1, hMSH2, and MGMT genes in colorectal cancer associated with adenoma-carcinoma sequence. *Langenbecks's Archive of Surgery*, 396 (7),1017–1026.
- Lees, A.J., Selikhova, M., Andrade, L.A., and Duyckaerts, C. (2008). The black stuff and Konstantin Nikolaevich Tretiakoff. *Movement Disorders*, 23 (6),777-83.
- Lev, N., Melamed, E. (2001). Heredity in Parkinson's Disease: New Findings. *IMAJ*, 3, 435-438.
- Lewis, J., Melrose, H., Bumcrot, D., Hope, A., Zehr, C., Lincoln, S., Braithwaite, A., He, Z., Ogholikhan, S., Hinkle, K., Kent, C., Toudjarska, I., Charisse, K., Braich, R., Pandey, R.K., Heckman, M., Maraganore, D.M., Crook, J., and Farrer, M.J. (2008). In vivo silencing of alpha-synuclein using naked siRNA. *Molecular Neurodegeneration*, 3,19.
- LeWitt, P.A. (2015). Levodopa therapy for Parkinson's disease: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Movement Disorders*, 30 (1), 64-72.
- Li, G.M. (2014). New insights and challenges in mismatch repair: getting over the chromatin hurdle. *DNA Repair (Amst)*, 19:48–54.
- Lida, T., Furuta, A., Kawashima, M., Nishida, J., Nakabeppu, Y., Iwaki, T. (2001). Accumulation of 8-oxo-2'-deoxyguanosine and increased expression of hMTH1 protein in brain tumors. *Neuro-Oncology*, 3 (2), 73-81.
- Lill, C.M., Roehr, J.T., McQueen, M.B., Kavvoura, F.K., Bagade, S., Schjeide, B.M., Schjeide, L.M., Meissner, E., Zauft. U., Allen. N.C., Liu, T., Schilling, M., Anderson, K.J., Beecham, G., Berg, D., Biernacka, J.M., Brice, DeStefano, A.L., Do, C.B., Eriksson, N., Factor, S.A., Farrer, M.J., Foroud, T., Gasser, T., Hamza, T., Hardy, J.A., Heutink, P., Hill-Burns, E.M., Klein, C., Latourelle, J.C., Maraganore, D.M., Martin, E.R., Martinez, M., Myers, R.H., Nalls, M.A., Pankratz, N., Payami, H., Satake, W., Scott, W.K., Sharma, M., Singleton, A.B., Stefansson, K., Toda, T., Tung, J.Y., Vance, J., Wood, N.W., Zabetian, C.P.; 23andMe Genetic Epidemiology of Parkinson's Disease Consortium; International Parkinson's Disease Genomics Consortium; Parkinson's Disease GWAS Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium 2), Young, P., Tanzi, R.E., Khoury, M.J., Zipp, F., Lehrach, H., Ioannidis, J.P., and Bertram, L.A. (2012). Comprehensive research synopsis and systematic meta-analyses in Parkinson's disease genetics: The PDGene database. *PLoS Genetics*, 8 (3).
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P. (2000). Molecular Cell Biology. Freeman W.H. (Ed.) Fifth Edition. **Chapter 16: Moving Proteins into Membranes and Organelles**. New York, Pp,657-700.
- Loft, S., Høgh Danielsen, P., Mikkelsen, L., Risom, L., Forchhammer, L., and Møller, P. (2008). Biomarkers of oxidative damage to DNA and repair. *Biochemical Society Transaction*, 36 (Pt 5),1071-6.

- Lorenz, T.C. (2012). Polymerase Chain Reaction: Basic Protocol Plus Troubleshooting and Optimization Strategies. *Journal of Visualised Experiment*, (63), e3998.
- Luo, Y., Hoffer, A., Hoffer, B., and Qi X. (2015). Mitochondria: A Therapeutic Target for Parkinson's Disease? *International Journal of Molecular Science*, 16(9),20704-20730.
- Ma, C., Liu, Y., Neumann, S., and Gao, X. (2017). Nicotine from cigarette smoking and diet and Parkinson disease: a review. *Translational Neurodegeneration*, 6, 18.
- Maki, H., Sekiguchi, M. (1992). MutT protein specifically hydrolyses a potent mutagenic substrate for DNA synthesis. *Nature*, 355, 273-275.
- Mateuca, R.A., Roelants, M., Iarmarcovai, G., Aka, P.V., Godderis, L., Tremp, A., Bonassi, S., Fenech, M., Berge, J.L., Lefranc, B., and Volders, M.K. (2008). hOGG1 (326), XRCC1 (399) and XRCC3 (241) polymorphisms influence micronucleus frequencies in human lymphocytes in vivo. *Mutagenesis*, 23, 35-41. 14.
- Maynard, S., Schurman, S.H., Harboe, C., Souza-Pinto, N.C., and Bohr, V.A. (2009). Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. *Carcinogenesis*, 2–10.
- McCoy, M.K., Tansey, M.G. (2008). TNF signaling inhibition in the CNS: implications for normal brain function and neurodegenerative disease. *Journal of Neuroinflammation*, 5, 45.
- Michaels, M.L., Cruz, C., Grollman, A.P., and Miller, J.H. (1992). Evidence that MutY and MutM combine to prevent mutations by an oxidatively damaged form of guanine in DNA. *PNAS*, 89 (15),7022-7025.
- Michaels, M.L., Pham, L., Cruz, C., and Miller, J.H. (1991). MutM, a protein that prevents G.C—T.A transversions, is formamidopyrimidine- DNA glycosylase. *Nucleic Acids Research*, 19 (13), 3629–3632.
- Miyako, K., Kohno, H., Ihara, K., Kuromaru, R., Matsuura, N., and Hara, T. (2004). Association study of human MTH1 gene polymorphisms with type 1 diabetes mellitus. *Endocrine Journal*, 51 (5), 493-8.
- Mo, J.Y., Maki, H., and Sekiguchi, M. (1992). Hydrolytic elimination of a mutagenic nucleotide, 8-oxodGTP, by human 18-kilodalton protein: Sanitization of nucleotide pool. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 89, 3949–3952.
- Mocquet, V., Laine, J.P., Riedl, T., Yajin, Z., Lee, M.Y., and Egly, J.M. (2008). Sequential recruitment of the repair factors during NER: the role of XPG in initiating the resynthesis step. *EMBO Journal*, 27 (1),155–167.
- Munoz, D.G., Fujioka, S. (2018). Caffeine and Parkinson disease: A possible diagnostic and pathogenic breakthrough. *Neurology*, 90 (5),205-206.

- Nakabeppu, Y, Tsuchimoto, D, Yamaguchi, H, and Sakumi, K. (2007). Oxidative Damage in Nucleic Acids and Parkinson's Disease. *Journal of Neuroscience Research*, 85, 919–934.
- Nakabeppu Y. (2001). Molecular genetics and structural biology of human MutT homolog, MTH1. *Mutation Research*, 477 (1-2), 59-70.
- Nishi, R., Okuda, Y., Watanabe, E., Mori T., Iwai, S., Masutani, C, Sugasawa, K., and Hanaoka, F. (2005). Centrin 2 stimulates nucleotide excision repair by interacting with xeroderma pigmentosum group C protein. *Molecular and Cellular Biology*, 25 (13), 5664–5674.
- Nishioka, K., Ohtsubo, T., Oda, H., Fujiwara, T., Kang, D., Sugimachi, K., and Nakabeppu, Y. (1999). Expression and differential intracellular localization of two major forms of human 8-oxoguanine DNA glycosylase encoded by alternatively spliced OGG1 mRNAs. *Molecular Biology of the Cell*, 10,1637-1652.
- Norjmaa, B., Tulgaa, K., and Saitoh, T. (2016). Base Excision Repair Pathway and Polymorphisms of XRCC1 Gene. *Journal of MPE Molecular Pathological Epidemiology*. 2016,1-4.
- Ochiai, H. (2015). Single-Base Pair Genome Editing in Human Cells by Using Site Specific Endonucleases. *International Journal of Molecular Science*, 16, 21128-37.
- Odell, I.D., Wallace, S.S., and Pederson, D.S. (2013). Rules of engagement for base excision repair in chromatin. *Journal of Cellular Physiology*, 228 (2),258–266.
- Ogi, T., Limsirichaikul, S., Overmeer, R.M., Volker, M., Takenaka, K., Cloney, R., Nakazawa, Y., Niimi, A., Miki, Y., Jaspers, N.G., Mullenders, L.H., Yamashita, S., Fousteri, M.I., and Lehmann, A.R. (2010). Three DNA polymerases, recruited by different mechanisms, carry out NER repair synthesis in human cells. *Molecular Cell*, 37 (5),714–727.
- Olanow, C.W., Brundin, P. (2013). Parkinson's Disease and Alpha Synuclein: Is Parkinson's Disease a Prion-Like Disorder? *Movement Disorders*, 28 (1),31-4.
- Olanow, C.W., Kordower, J.H., Lang, A.E., and Obeso, J.A. (2009). Dopaminergic transplantation for Parkinson's disease: Current status and future prospects. *Annals of Neurology*, 66 (5),591-6.
- Pagano, G., Polychronis, S., Wilson, H., Giordano, B., Ferrara, N., Niccolini, F., and Politis, M. (2018). Diabetes mellitus and Parkinson disease. *Neurology*, 90 (19),e1654-e1662.
- Pan, P.Y., Zhu. Y., Shen Y., and Yue, Z. (2018). Crosstalk between presynaptic trafficking and autophagy in Parkinson's. *Neurobiology of Disease*, S0969-9961 (18),30136.
- Parildar-Karpuzoğlu, H., Doğru-Abbasoğlu, S., Hanagasi, H.A., Karadağ, B., Gürvit, H., Emre, M., Uysal, M. (2008). Single nucleotide polymorphisms in base-excision repair genes hOGG1, APEX1 and XRCC1 do not alter risk of Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 442 (3),287-91.

- Pegg A. (2011). Multifaceted roles of alkyltransferase and related proteins in DNA repair, DNA damage, resistance to chemotherapy, and research tools. ***Chemical Research in Toxicology***, 24 (5).
- Peltomaki, P. (2001). DNA mismatch repair and cancer. ***Mutation Research***, 488 (1), 77–85.
- Pupyshev, A.B., Korolenko, T.A., Akopyan, A.A., Amstislavskaya, T.G., and Tikhonova, M.A. (2018). Suppression of autophagy in the brain of transgenic mice with overexpression of capital A, Cyrillic53capital TE, Cyrillic-mutant alpha-synuclein as an early event at synucleinopathy progression. ***Neuroscience Letters***, 672, 140–142.
- Radak Z, Boldogh I. (2010). 8-Oxo-7, 8-dihydroguanine: links to gene expression, aging, and defense against oxidative stress. ***Free Radical Biology and Medicine***, 49 (4), 587–596.
- Radak, Z., Zhao, Z., Goto, S., and Koltai, E. (2011). Age-associated neurodegeneration and oxidative damage to lipids, proteins and DNA. ***Molecular Aspect of Medicine***, 32, 305–315.
- Reed T. (2011). Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. ***Free Radical Biology of Medicine***, 51, 1302–1319.
- Richards, R. I, Robertson, S. A, O'Keefe, L. V, Fornarino D, Scott A, Lardelli M, and Baune B.T. (2016). The Enemy Within: Innate Surveillance-mediated Cell Death, the common mechanism of neurodegenerative disease. ***Frontiers in Neuroscience***, 10, 193.
- Ritz, B., Ascherio, A., Checkoway, H., Marder, K.S., Nelson, L.M., Rocca, W.A., Ross, G.W., Strickland, D., Van Den Eeden, S.K., Gorell, J. (2007). Pooled analysis of tobacco use and risk of Parkinson disease. ***Archives of Neurology***, 64 (7), 990–7.
- Rossit, A. R., Cabral, I. R., Hackel, C., Froes R.S., N.D., Abdel-Rahman, S.Z. (2002). Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 and susceptibility to alcoholic liver cirrhosis in older Southeastern Brazilians. ***Cancer Letters***, 180, 173–182.
- Sachadyn, P. (2010). Conservation and diversity of MutS proteins. ***Mutation Research***, 694 (1–2), 20–30.
- Sancar A, Kulaksız G. (2007). Nucleotide Excision Repair and Cancer. ***Turkish Journal of Biochemistry***, 32 (3), 104–111.
- Sancar, A., Lindsey-Boltz L.A., Unsal-Kaçmaz, K., Linn, S. (2004). Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. ***Annual Review of Biochemistry***, 73, 39–85.
- Sancar, A., Reardon, J. (2004). Nucleotide Excision Repair in *E. Coli* and Man. ***Advances in Protein Chemistry***, 43–71.
- Sanders, L.H., McCoy, J., Hu, X., Mastroberardino, P.G., Dickinson, B.C., Chang, C.J., Chu, C.T., Van Houten, B., Greenamyre, J.T. (2014). Mitochondrial DNA damage: Molecular marker of vulnerable nigral neurons in Parkinson's disease. ***Neurobiology of Disease***, 70: 214–223.

- Sanders, L.H., Paul, K.C., Howlett, E.H., Lawal, H., Boppana, S., Bronstein, J.M., Ritz, B., Greenamyre, J.T. (2017). Editor's Highlight: Base Excision Repair Variants and Pesticide Exposure Increase Parkinson's Disease Risk. ***Toxicological Sciences***, 158 (1), 188-198.
- Sanyal, J., Jana, A., Ghosh, E., Banerjee, T.K., Chakraborty, D.P., Rao, V.R. (2015). Evaluation of PARKIN gene variants in West Bengal Parkinson's disease patients. ***Journal of Human Genetics***, 60 (9), 485-92.
- Sato, H., Arawaka, S., Koyama, S., Sasaki, A., Kato, T. (2017). Mechanisms underlying extensive Ser129-phosphorylation in α -synuclein aggregates. ***Acta Neuropathologica Communications***, 5, 48.
- Satoh, J., Kuroda, Y.A. (2000). Valine to methionine polymorphism at codon 83 in the 8-oxo-dGTPase gene MTH1 is not associated with sporadic Parkinson's disease. ***European Journal of Neurology***, 7 (6), 673-7.
- Saxonov, S., Berg, P., Brutlag, D.L. (2006). A genome-wide analysis of CpG dinucleotides in the human genome distinguishes two distinct classes of promoters. ***Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA***, 103 (5), 1412–1417.
- Schapira, A.H. (2008). Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. ***Lancet Neurology***, 7 (1), 97-109.
- Scharer, O.D. (2013). Nucleotide excision repair in eukaryotes. ***Cold Spring Harbor Perspectives in Biology***, 5 (10), a012609.
- Schnabel, J. (2010). Secrets of the shaking palsy. ***Nature***, 466 (7310), S2-5.
- Segura-Aguilar, J., Paris, I., Munoz, P., Ferrari, E., Zecca, L., and Zucca, F.A. (2014). Protective and toxic roles of dopamine in Parkinson's disease. ***Journal Neurochemistry***, 129 (6), 898-915.
- Seibold, P., Schmezer, P., Behrens, S., Michailidou, K., Bolla, M.K., Wang, Q., Flesch-Janys, D., Nevanlinna, H., Fagerholm, R., Aittomäki, K., Blomqvist, C., Margolin, S., Mannermaa, A., Kataja, V., Kosma, V.M., Hartikainen, J.M., Lambrechts, D., Wildiers, H., Kristensen, V., Alnæs, G.G., Nord, S., Borresen-Dale, A.L., Hooning, M.J., Hollestelle, A., Jager, A., Seynaeve, C., Li, J., Liu, J., Humphreys, K., Dunning, A.M., Rhenius, V., Shah, M., Kabisch, M., Torres, D., Ulmer, H.U., Hamann, U., Schildkraut, J.M., Purrington, K.S., Couch, F.J., Hall, P., Pharoah, P., Easton, D.F., Schmidt, M.K., Chang-Claude, J., Popanda, O. (2015). A polymorphism in the base excision repair gene PARP2 is associated with differential prognosis by chemotherapy among postmenopausal breast cancer patients. ***BMC Cancer***, 15:978.
- Selvaraj, S., Sun, Y., Watt, J.A., Wang, S., Lei, S., Birnbaumer, L., Singh, B.B. (2012). Neurotoxin-induced ER stress in mouse dopaminergic neurons involves downregulation of TRPC1 and inhibition of AKT/mTOR signaling. ***The Journal of Clinical Investigations***, 122 (4), 1354-67.

- Shen, J., Gammon, M.D., Terry, M.B., Wang, L., Wang, Q., Zhang, F., Teitelbaum, S.L., Eng, S.M., Sagiv, S.K., Gaudet, M.M., Neugut, A.I., Santella, R.M. (2005). Polymorphisms in XRCC1 Modify the Association between Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-DNA Adducts, Cigarette Smoking, Dietary Antioxidants, and Breast Cancer Risk. **Cancer Epidemiol Biomarkers and Prevention**, 14 (2),336-42.
- Shen, M., Hung, R. J., Brennan, P., Malaveille, C., Donato, F., Placidi, D., Carta, A., Hautefeuille, A., Boffetta, P., Porru, S. (2003). Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1, XRCC3, XPD, interaction with environmental exposures, and bladder cancer risk in a case-control study in Northern Italy. **CEBP**, 12,1234–1240.
- Sheng, Z., Oka, S., Tsuchimoto, D., Abolhassani, N., Nomaru, H., Sakumi, K., Yamada, H., Nakabeppu, Y. (2012). 8-Oxoguanine causes neurodegeneration during MUTYH-mediated DNA base excision repair. **The Journal of Clinical Investigation**, 122 (12), 4344-61.
- Sherer, T.B., Betarbet, R., Greenamyre, J.T. (2001). Pathogenesis of Parkinson's disease. **Current Opinion in Investigational Drugs**, 2, 657–662.
- Shimura-Miura, H., Hattori, N., Kang, D., Miyako, K., Nakabeppu, Y., Mizuno, Y. (1999). Increased 8-oxo-dGTPase in the mitochondria of substantia nigral neurons in Parkinson's disease. **Annals Neurology**, 46 (6), 920-4.
- Simón-Sánchez, J., Schulte, C., Bras, J.M., Sharma, M., Gibbs, J.R., Berg, D., Paisan-Ruiz, C., Lichtner, P., Scholz, S.W., Hernandez, D.G., Krüger, R., Federoff, M., Klein, C., Goate, A., Perlmutter, J., Bonin, M., Nalls, M.A., Illig, T., Gieger, C., Houlden, H., Steffens, M., Okun, M.S., Racette, B.A., Cookson, M.R., Foote, K.D., Fernandez, H.H., Traynor, B., Schreiber, S., Arepalli, S., Zonozi, R., Gwinn, K., van der Brug, M., Lopez, G., Chanock, S.J., Schatzkin, A., Park, Y., Hollenbeck, A., Gao, J., Huang, X., Wood, N.W., Lorenz, D., Deuschl, G., Chen, H., Riess, O., Hardy, J.A., Singleton, A.B., and Gasser, T. (2009). Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. **Nature Genetics**, 41 (12),1308-12.
- Skinner, J.S. (2005). **Exercise testing and exercise prescription for special cases: theoretical basis and clinical application**, (Ed.), Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
- Speina, E., Arczewska, K.D., Gackowski, D., Zielińska, M., Siomek, A., Kowalewski, J., Oliński, R., Tudek, B., Kuśmierk, J.T. (2005). Contribution of hMTH1 to the maintenance of 8-oxoguanine levels in lung DNA of non-small-cell lung cancer patients. **Journal of the National Cancer Institute**, 97 (5),384-95.
- Sterpone, S., Cozzi, R. (2010). Influence of XRCC1 genetic polymorphisms on ionizing radiation-induced DNA damage and repair. **Journal of Nucleic Acids**, 780369, 1-6.
- Stockum, S., Nardin, A., Schrepfer, E., Ziviani E. (2016). Mitochondrial dynamics and mitophagy in Parkinson's disease: A fly point of view. **Neurobiology of Disease**, 90, 58-67.

- Sugimura, H., Kohno, T., Wakai, K., Nagura, K., Genka, K., Igarashi, H., Morris, B.J., Baba, S., Ohno, Y., Gao, C.M., Li Z.Y., Wang, J.D., Takezaki, T., Tajima, K., Varga, T., Sawaguchi, T., Lum, J.K., Martinson, J.J., Tsugane, S., Iwamasa, T., Shinmura, K., and Yokota, J. (1999). hOGG1 Ser 326 Cys polymorphism and lung cancer susceptibility. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, 8, 669–674.
- Svilar, D., Goellner, E.M., Almeida, K.H., and Sobol, R.W. (2011). Base excision repair and lesion-dependent subpathways for repair of oxidative DNA damage. **Antioxidant Redox Signaling**, 14 (12), 2491–2507.
- Taguchi, Y.V., Liu, J., Ruan, J., Pacheco, J., Zhang, X., Abbasi, J., Keutzer, J., Mistry, P.K., and Chandra, S.S. (2017). Glucosylsphingosine Promotes α -Synuclein Pathology in Mutant GBA-Associated Parkinson's Disease. **Journal of Neuroscience**, 37 (40), 9617-9631.
- Tamae, K., Hirano, T. (2012). Differentiation of Embryonic Stem Cells and Oxidative DNA Damage / DNA Repair Systems. **Journal of Stem Cell Research and Therapy**, 10, 1-5.
- Tang, F.L., Liu, W., Hu, J.X., Erion J.R., Ye, J., Mei, L., and Xiong, W.C. (2015). VPS35 Deficiency or Mutation Causes Dopaminergic Neuronal Loss by Impairing Mitochondrial Fusion and Function. **Cell Reports**, 12 (10), 1631-43.
- Tchou, J., Kasai, H., Shibutani, S., Chung, M.H., Laval, J., Grollman, A.P., and Nishimura, S. (1991). 8-oxo-guanine (8-hydroxyguanine) DNA glycosylase and its substrate specificity. **PNAS**, 88 (11), 4690-4694.
- Trabulus, S., Guven, G.S., Altiparmak, M.R., Batar, B., Tun, O., Yalin, A.S., Tunckale, A., and Guven, M. (2012). DNA repair XRCC1 Arg399Gln polymorphism is associated with the risk of development of end-stage renal disease. **Molecular Biology Reports**, 39 (6), 6995-7001.
- Trimmer, P.A., Bennett, J.P. (2009). Jr. The cybrid model of sporadic Parkinson's disease. **Experimental Neurology**, 218 (2), 320-5.
- Tubbs, J.L., Pegg A.E., and Tainer, J.A. (2007). DNA binding, nucleotide flipping, and the helix-turn-helix motif in base repair by O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase and its implications for cancer chemotherapy. **DNA Repair (Amst)**, 6 (8), 1100–1115.
- Uttara, B., Singh, A., Zamboni, P., and Mahajan, R.T. (2009). Bentham Science Publishers Ltd. Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. **Current Neuropharmacology**, 7, 65-74.
- Valdés, P., Mercado, G., Vidal, R.L., Molina, C., Parsons, G., Court, F.A., Martinez, A., Galleguillos, D., Armentano, D., Schneider, B.L., and Hetz, C. (2014). Control of dopaminergic neuron survival by the unfolded protein response transcription factor XBP1. **Proceeding of The National Academy of Science of the U.S.A.**, 111 (18), 6804-9.

- Walter, P., Ron, D. (2011). The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. **Science**, 334 (6059), 1081-6.
- Wang, J., Xiong, S., Xie, C., Markesbery, W.R., and Lovell, M.A. (2005). Increased oxidative damage in nuclear and mitochondrial DNA in Alzheimer's disease. **Journal of Neurochemistry**, 93 (4), 953-62.
- Warner, T.T., Schapira, A.H. (2003). Genetic and environmental factors in the cause of Parkinson's disease. **Annals of Neurology**, 53, S16–S25.
- Weiss, J.M., Goode, E.L., Ladiges, W.C., and Ulrich, C.M. (2005). Polymorphic variation in *hOGG1* and risk of cancer: A review of the functional and epidemiologic literature. **Molecular Carcinogenesis**, 42,127-41.
- Weng, H., Weng, Z., Lu, Y., Nakayama, K., and Morimoto, K. (2009). Effect of cigarette smoking, XRCC1 genetic polymorphisms, and age on basal DNA damage in human blood mononuclear cells. **Mutation Research**, 679 (1-2), 59-64.
- Wikman, H., Risch, A., Klimek, F., Schmezer, P., Spiegelhalder, B., Dienemann, H., Kayser, K., Schulz, V., and Drings, P. (2000). hOGG1 polymorphism and loss of heterozygosity (LOH): significance for lung cancer susceptibility in a Caucasian population. **International Journal of Cancer**, 88, 932–937.
- Willis, A., Evanoff, B.A., Lian, M., Criswell, S.R., Racetta, B.A. (2010). Geographic and Ethnic Variation in Parkinson Disease: A Population-Based Study of US Medicare Beneficiaries. **Neuroepidemiology**, 34 (3),143-51.
- Wilson, D.M., McNeill, D.R. (2007). Base excision repair and the central nervous system. **Neuroscience**, 145,1187–1200.
- Wong, A.W., McCallum, G.P., Jeng, W., and Wells, P.G. (2008). Oxoguanine glycosylase 1 protects against methamphetamine-enhanced fetal brain oxidative DNA damage and neurodevelopmental deficits. **The Journal of Neuroscience**, 28 (36), 9047-54.
- Wood , R.D., Mitchell, M., Sgouros, J., and Lindahl, T. (2001). Human DNA repair genes. **Science**, 291,1284–1289.
- Wooten, G.F., Currie, L.J., Bovbjerg, V.E., Lee, J.K., and Patrie, J. (2004). Are men at greater risk for Parkinson's disease than women? **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, 75, 637–639.
- Wyrick, J.J., Roberts S.A. (2015). Genomic Approaches to DNA repair and Mutagenesis. **DNA Repair (Amst)**, 36, 146–155.
- Xiao, B., Goh, J.Y., Xiao, L., Xian H., Lim K.L., and Liou, Y.C. (2017). Reactive oxygen species trigger Parkin/PINK1 pathway-dependent mitophagy by inducing mitochondrial recruitment of Parkin. **Journal of Biological Chemistry**, 292 (40).

- Xu, C.Y., Kang, W.Y., Chen, Y.M., Jiang, T.F., Zhang, J., Zhang, L.N., Ding, J.Q., Liu, J., and Chen, S.D. (2017). DJ-1 Inhibits α -synuclein Aggregation by Regulating Chaperone-Mediated Autophagy. ***Frontiers in Aging Neuroscience***, 9,308.
- Yamaguchi, H., Kajitani, K., Dan, Y., Furuichi, M., Ohno, M., Sakumi, K., Kang, D., and Nakabeppu, Y. (2006). MTH1, an oxidized purine nucleoside triphosphatase, protects the dopamine neurons from oxidative damage in nucleic acids caused by 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine. *Cell Death and Differentiation*, 13 (4),551-63.
- Yokoi, M., Masutani, C., Maekawa, T., Sugasawa, K., Ohkuma, Y., and Hanaoka, F. (2000). The xeroderma pigmentosum group C protein complex XPC-HR23B plays an important role in the recruitment of transcription factor IIH to damaged DNA. ***The Journal of Biological Chemistry***, 275 (13), 9870–9875.
- Zeng, X., Geng, W., Jia, J., Chen L., and Zhang PP. (2018). Cellular and Molecular Basis of Neurodegeneration in Parkinson. ***Frontiers in Aging Neuroscience***, 10, 109.
- Zharikov, A., Cannon, J.R., Tapias, V., Bai, Q., Horowitz, M.P., Shah, V., El Ayadi, A., Hastings, T.G., Greenamyre, J.T., and Burton, A. (2015). shRNA targeting α -synuclein prevents neurodegeneration in a Parkinson's disease model. ***Journal of Clinical Investigation***, 125 (7), 2721-2735.
- Zhou, W., Liu, G., Miller, D.P., Thurston, S.W., Xu, L.L., Wain, J.C., Lynch, T.J., Su, L., and Christiani, D.C. (2003). Polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1 and ERCC2, smoking, and lung cancer risk. ***Cancer Epidemiol Biomarkers and Prevention***, 12 (4), 359-65.
- Zhuang, N., Li, L., Chen, S., and Wang, T. (2016). PINK1-dependent phosphorylation of PINK1 and Parkin is essential for mitochondrial quality control. ***Cell Death and Disease***, 7 (12), e2501.



EKLER

EK 1. Çalışmaya Katılan Her Birey İçin Doldurulan Anket Formu Örneği

ANKET FORMU

Tarih:

Kayıt No:					
Hasta Protokol No					
Ad Soyad:				Tel:	
Yaş:				Doğum Yeri:	
Hastalığın Evresi				Hastalığın Kaçınıcı Yılı	
Vücut Kitle İndeksi (BMI)				Ağırlık	
Meslek/çalışma süresi				Boy	
Sigara içme alışkanlığı				Yaşadığınız şehir ve süresi	
Sigara içme alışkanlığı				Hiç içmedim	
Sigara içme alışkanlığı				Eskiden içerdim	
Sigara başlama yaşı				Sigarayı bırakma yaşı	
Ne kadar süre önce sigarayı bıraktınız?					
Ne kadar süredir sigara içiyorsunuz?					
Miktarı (Günde kaç adet)					
Sigara içilen ortamlarda sıkça bulunuyor musunuz?	Evet () Hayır ()				
Diyabet yada herhangi bir kalp rahatsızlığı var mı					
= Varsa Nedir=?					
Düzenli alınan ilaçlar ve süreleri (Vitamin dâhil) :					
Kadın ise; Menarş yaşı:				menapoz yaşı:	
Alkol alıyor musunuz?				Hayır ()	Evet ()
Kaç yıldır kullanıyorsunuz?:	Nadiren ()	Haftada bir ()	Haftada 2-3 ()	Haftada 4-5 ()	Her gün ()
Kahve içme alışkanlığınız var mı?	Var ()	Yok ()	Günde 1 bardak ()	Günde 2 bardak ()	3 ve daha fazla ()
Çay içme alışkanlığınız var mı?	Var ()	Yok ()	Günde 1 bardak ()	Günde 2 bardak ()	3 ve daha fazla ()
Beslenme alışkanlığınız nedir?					
Et ağırlıklı ()	Sebze-meyve ağırlıklı ()	Kuru bakliyat ağırlıklı ()	Balık ve diğer deniz ürünleri ağırlıklı ()	Karışık beslenme ()	Kızartma ağırlıklı yağlı diyet ()
Aile bireylerinde genetik bir hastalık var mı?	Hayır ()		Evet ()		Nedir?
Sizde Ailenizde, Parkinson veya başka hastalık var mı?			Türü:		Nedir?:
Göğüs Röntgeni ()	Diş ()		Diğer () Belirtiniz		
Şu anda herhangi bir enfeksiyon (grip, nezle vs) var mı?					

Ek 2. Etik Kurul Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU							
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu					
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara					
	TELEFON	0312 202 69 58					
	FAKS	0312 202 46 73					
	E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr					
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	DNA onarım enzimlerindeki gen polimorfizmlerinin Parkinson hastalığındaki etkisi					
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Bensu KARAHALİL					
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI/UZMANLIK ALANI/BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi					
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)						
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalde yapılacak araştırmalar(gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan)- Doktora Tezi					
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐		
	DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili		
ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ		30.05.2016	1	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐	
AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU		30.05.2016	1	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒					
	BIYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU	☐					
	DİĞER	☐					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 346	Toplantı tarihi: 13.06.2016					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve "bütçesi dışında" uygun bulunmuş olup, araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, G.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.						
GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU							
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik (13.04.2013), İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof.Dr.Sezai ŞAŞMAZ					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi		Katılım *	
Prof.Dr.Sezai ŞAŞMAZ BAŞKAN	Deri ve Zührevi Hast. AD.	G.Ü.T.F.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	İmza	
Prof.Dr.Zeki YILDIRIM BAŞKAN YARD.	Göğüs Hast. AD.	G.Ü.T.F.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	İmza	
Doç.Dr.Tolga Reşat AYDOS RAPORTÖR	Tıbbi Farmakoloji A.D.	B.Ü.T.F.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	İmza	

Ek 2. (devam) Etik Kurul Onayı

Prof.Dr.Irfan KARAGÖZ ÜYE	Biyomedikal Kalibrasyon ve Araşt. Merkezi Müdürü	G.Ü.M.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Özcan Leman BOYUNAĞA ÜYE	Radyoloji AD.	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Rukiye Filiz KARADAĞ ÜYE	Psikiyatri AD.	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etiği AD.	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Mine Esin OCAKTAN ÜYE	Halk Sağlığı AD.	A.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Nuriye ÖZDEMİR ÜYE	İç Hast. AD. Tıbbi Onkoloji BD.	Y.B.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Doç.Dr.Murat AKIN ÜYE	Genel Cerrahi A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Mustafa ARSLAN ÜYE	Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Tuğba HIRFANOĞLU ÜYE	Çocuk Sağlığı ve Hast.AD.Ç.Nör. BD.	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Av.Arzu BUZKIRAN KAYA ÜYE	Avukat	G.Ü.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Özlem BOĞOÇLU ÜYE	Sivil Temsilci	G.Ü.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ASLAN, Nergis Selma
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 1979, SAMSUN
Telefon : 0530118 88 26
e-mail : ecznergisaslan@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet
Doktora	Gazi Üniversitesi Farmasötik Toksikoloji	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Hacettepe Üniversitesi/Eczacılık	2012
Lisans	Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi	2002

Yabancı Dil

İngilizce/Almanca/İspanyolca



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

