



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**6-OHDA PARKİNSON MODELİ SIÇANLARDA
SUBSTANSİYA NİGRA PARS RETİKULATAYA
UYGULANAN DERİN BEYİN STİMULASYONUNUN
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Eylem TURGUT

Antalya, 2019



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**6-OHDA PARKİNSON MODELİ SIÇANLARDA
SUBSTANSİYA NİGRA PARS RETİKULATAYA
UYGULANAN DERİN BEYİN STİMULASYONUNUN
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Eylem TURGUT

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Aysel AĞAR

‘Kaynak gösterilerek tezinden yararlanılabilir.’

Antalya, 2019

TEŐEKKÖR

Tezimin planlanma aşamasından tamamlanmasına kadar ve uzmanlık eğitimim boyunca bilgilerini ve desteklerini esirgemeyen değerli danışmanım Prof. Dr. Aysel Ağar'a, bu aşamada eğitimime ve tezime katkıda bulunan Sayın Prof. Dr. Yasin Temel, Prof. Dr. Tanju Uçar ve Doç. Dr. Ersoy Kocacıak'a,

Deneylerimin her aşamasında yanımda olan değerli çalışma arkadaşım araştırma görevlisi Hande Parlak'a, bu dönemde, deney prosedürlerinin uygulanması sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Ali Jahanshahi'ye,

Uzmanlık süreci boyunca eğitimime bulundukları katkılardan dolayı Fizyoloji Anabilim Dalı değerli öğretim üyesi hocalarıma,

Eğitim sürecinde yanımda olan değerli araştırma görevlisi çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SİMGE ve KISALTMALAR	iv
ŞEKİL DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Parkinson Hastalığı Tanımı.....	3
2.2. Parkinson Hastalığı Epidemiyolojisi.....	3
2.3. Parkinson Hastalığı Tanı Kriterleri ve Sınıflandırılması	4
2.4. İdiyopatik PH Patofizyolojisi	6
2.5. Bazal Gangliyonlar.....	8
2.5.1. BG İşlevsel Anatomi	8
2.5.2. Makroanatomik Organizasyon	9
2.5.3. Striatumun Hücresel Organizasyonu.....	10
2.5.4. Substansiya Nigra Pars Retikulata.....	10
2.5.5. BG Paralel Devreleri	12
2.6. Serebellum.....	13
2.6.1. Serebellum Genel Bağlantıları	15
2.7. Parkinson Hastalığında Nöroanatomik Devreler	16
2.7.1. Bazal Gangliyonlar	16
2.7.2. Motor Devre	17
2.8. İdiyotik PH Bulgular	18
2.8.1. PH’de Yürüme Bozukluğu	19

2.9.	İdiyopatik PH Tedavisi	20
2.9.1.	İdiyopatik PH Medikal Tedavi	21
2.9.2.	İdiyopatik PH Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	23
2.9.3.	İdiyopatik PH Cerrahi Tedavi	24
2.10.	Derin Beyin Stimülasyonu	25
2.10.1.	DBS Çalışma Mekanizması.....	28
2.11.	BDNF	30
2.12.	c-FOS.....	33
3.	GEREÇ ve YÖNTEM.....	35
3.1.	Gruplandırma	35
3.2.	Cerrahi İşlemler.....	35
3.2.1.	Deneysel Parkinson Modelinin Oluşturulması.....	35
3.2.2.	Substansiya Nigraya Elektrot Yerleştirilmesi	36
3.2.3.	Derin Beyin Stimülasyonu	37
3.3.	Parametreler	38
3.3.1.	Davranışsal Testler	38
3.4.	Histolojik Analizler.....	42
3.4.1.	Parafine Gömme İşlemi İçin Doku Takibi	42
3.4.2.	İmmünohistokimyasal İşaretleme.....	42
3.4.3.	Image J Analizi.....	44
3.5.	Sonuçların Değerlendirilmesi.....	44
4.	BULGULAR.....	46
4.1.	Davranışsal Testler.....	46
4.1.1.	Lokomotor aktivite testi sonuçları.....	46

4.1.2.	Yürüme Analizi Sonuçları.....	49
4.1.3.	Rotarod Testi Sonuçları.....	51
4.2.	İmmünohistokimyasal Analizler	52
4.2.1.	SNC alanında TH immünohistokimyası	52
4.2.2.	Serebellumdaki İmmünohistokimyasal Analizler	54
4.2.3.	Frontal Kortekste İmmünohistokimyasal Analizler	58
4.2.4.	Talamusda İmmünohistokimyasal Analizler.....	62
5.	TARTIŞMA	67
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	73
7.	ÖZET.....	74
8.	ABSTRACT	75
9.	KAYNAKLAR	76

SİMGE ve KISALTMALAR

6-hidroksidopamin	: 6 OHDA
Aromatik Amino Asit Dekarboksilaz	: AADC
Bazal Gangliyon	: BG
Beyin türevli Nörotrofik Faktör	: BDNF
Derin Beyin Stimülasyonu	: DBS
Dikensi Çıkıntılı Nöron	: MSN
Dorsolateral Prefrontal Korteks	: DLPFK
Erken Büyüme Yanıtı – 1	: EGR1
Fosfatidilinositol 3-kinaz	: PI3K
Fosfolipaz C Y	: PLC- Y
Gama aminobütrik asit	: GABA
Glia Kökenli Nörotrofik Faktör	: GDNF
Globus Pallidus eksternal segment	: GPe
Globus Pallidus internal segment	: GPi
Glutamatik Asit Dekarboksilaz	: GAD
GTP-siklohidrolaz-1	: GCH-1
Hemen Erken Gen	: IEG
İdiyopatik Parkinson Hastalığı	: İPH

Katekol-O-Metil Transferaz	: KOMT
Lewy Cisimcikleri	: LC
Medyal önbeyin demeti	: MFB
Mitojenle Etkileşen Protein Kinaz	: MAPK
Mono amino oksidaz tip B	: MAO-B
Nöron Büyüme Faktörü	: NGF
Nörotrofin-3	: NT-3
Nörotrofin-4	: NT-4
Obsesif-Kompulsif Bozukluk	: OKB
Parkinson Hastalığı	: PH
Santral Sinir Sistemi	: SSS
Serebral Korteks Astrosit Kökenli Nörotrofik Faktör	: CDFN
Substansiya Nigra	: SN
Substansiya Nigra pars retikulata	: SNr
Substansiya Nigra pars kompakta	: SNc
Suplementer Motor Alan	: SMA
Subtalamik nukleus	: STN
Tirozin Hidroksilaz	: TH

Tirozin Kinaz Reseptör-B

: TrkB

Uzun Dönem Potansiyel

:LTP



ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1 PH’de Nöroanatomik Mekanizmalar	17
Şekil 2.2 DBS elektrod ve pil yerleşimi temsili gösterimi	27
Şekil 3.1 SNr Elektrod lokalizasyonu	36
Şekil 3.2 a) Sterotaksik cerrahi işleminden bir örnek, b) cerrahi işlem prosedürü tamamlanmış bir sıçan	37
Şekil 3.3 DBS için kullanılan stimülatör	38
Şekil 3.4 Lokomotor Aktivite Testi	39
Şekil 3.5 Yürüme Testi	40
Şekil 3.6 Yürüme Analizinden Elde Edilen Kayıtlar	41
Şekil 3.7 Rotarod Testi Uygulaması	42
Şekil 4.1 (A-E): Lokomotor aktivite testi sonuçları	48
Şekil 4.2 (A-D) Ayak İzi Ölçüm Sonuçları	50
Şekil 4.3 (A-D) 10-20-30-40 rpm hızlarında rotarod sonuçları	52
Şekil 4.4 TH immünohistokimya sonuçları	53
Şekil 4.5 TH İmmünohistokimya Gruplar Arası Ekspresyon Farklılıkları	54
Şekil 4.6 Serebellum c-fos immünohistokimya sonuçları	55
Şekil 4.7 Serebellum c-fos Gruplar arasındaki ekspresyon farkları	56
Şekil 4.8 Serebellum BDNF immünohistokimya sonuçları	57
Şekil 4.9 Serebellum BDNF Gruplar arasındaki ekspresyon farkları	58
Şekil 4.10 Frontal Korteks c-fos immünohistokimyası sonuçları	59
Şekil 4.11 Frontal Korteks c-fos Gruplar arasındaki ekspresyon farkları	60
Şekil 4.12 Frontal Korteks BDNF immünohistokimya sonuçları	61
Şekil 4.13 Frontal Korteks Gruplar arasındaki ekspresyon farkları	62
Şekil 4.14 Talamus c-fos immünohistokimya sonuçları	63
Şekil 4.15 Talamus c-fos Gruplar arasındaki ekspresyon farkları	64
Şekil 4.16 Talamus BDNF immünohistokimya sonuçları	65
Şekil 4.17 Talamus BDNF Gruplar arasındaki ekspresyon farkları	66

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo 2-1 Parkinson Hastalığı Tanı Kriterleri.....	4
Tablo 2-2 Parkinson Hastalığı Sınıflandırması	6
Tablo 2-3 Parkinson Hastalığı Bulgular.....	18
Tablo 2-4 DBS Etki Mekanizmaları.....	30



1. GİRİŞ

Parkinson hastalığı nigrostriatal yolaktaki nöromelanin içeren dopaminerjik nöronların kaybı ile ortaya çıkan kronik nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın başlıca klinik bulguları; istirahat tremoru, istemli hareketlerde yavaşlama, rijidite, ayakta duruş anormallikleri ve dengeyi koruyamamadır (Jankovic, 2003).

Parkinson hastalığının semptomatolojinin farmakolojik tedavisinde levodopa, dopamin agonistleri, monoamin oksidaz B (MAO-B) inhibitörleri, antikolinerjik ajanlar, Katekol-O-Metil Transferaz (KOMT) inhibitörleri, amantadin gibi ajanlar kullanılmaktadır (Pahwa ve ark., 2006). Son yıllarda derin beyin stimülasyonu (DBS) Parkinson hastalığı semptomatik tedavisinde kabul görmüş olan bir tedavi yöntemidir (TekriwAl ve BAiTuch, 2015).

Derin beyin bölgelerine implante edilen elektrotlar aracılığı ile hedeflenen bölgeye sabit elektriksel akım verilmesi prensibine dayanmaktadır. Yıllar içinde yapılan klinik çalışmalar Parkinson hastalığının özellikle bradikinezi ve tremor semptomlarının tedavisinde en etkili hedef bölgenin subtalamik nukleus (STN) olduğu gösterilmiştir. Derin beyin stimülasyonunda bir diğer hedef bölge ise bazal gangliyon output nukleuslarından biri olan globus pallidus internustur. Ancak Subtalamik nukleus ve Globus Pallidus internal segmentine uygulanan DBS ileri evre yürüyüş bozukluklarını düzeltmede yetersiz kalmaktadır (Temel ve Visser-Vandewalle, 2006). Substansiya nigra pars retikulata, globus pallidus internus gibi bazal gangliyonların diğer output nukleusudur. Beyin sapı ve diğer bazal gangliyonlar ile bağlantıları nedeniyle yürüme ve dengenin düzenlenmesinde görev aldığı gösterilmiştir. Bu nedenle SNr bölgesinin yeni bir DBS hedef bölgesi olabileceği akla gelmektedir.

SNr bölgesine DBS'nin yürüme ve denge parametreleri üzerine uzun dönem etkisini değerlendiren bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda uzun süreli SNr-DBS'nin yürümeye olan etkileri incelenmiştir. SNr'nin bazal gangliyonların çıktığı birimi olması sebebiyle Parkinson hastalarında yürüme üzerine olumlu etkileri olacağını temel hipotezimiz olarak belirledik. Ayrıca SNr'ye DBS uygulanmasında beyin

haritalamasını gösteren bir çalışma literatürde mevcut değildir Bu sebeple tez çalışması kapsamında SNr ile nörofonksiyonel olarak bağlantılı bölgelerde (talamus ventrolaterali, serebellum, frontal korteks) beyin haritalaması amacı ile c-fos immunohistokimya çalışması planlanmıştır. Ek olarak bu bağlantılı bölgelerde uzun dönem SNr-DBS etkisinin araştırılması amacı ile nörotrofik bir faktör olan BDNF, immunohistokimyasal yöntem ile değerlendirilmiştir. Bu sayede DBS'nin uzun dönemde, nöroplastisiteye olan etkisi incelenmiş ve bulgularımız ışığında DBS'nin SNr'ye uygulanarak bağlantılı bölgelerin haritalanması ayrıca ortaya çıkan etkilerde BDNF'nin rolü de aydınlatılmaya çalışılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Parkinson Hastalığı Tanımı

James Parkinson tarafından istirahat tremoru, dizartri, disfaji, gittikçe hızlanan yürüyüş ve konstipasyon semptomları ile 1817 yılından tanımlanan Parkinson Hastalığı (PH) en temel ifadesiyle “titrek felç” olarak adlandırılmıştır (Parkinson, 2002). Kesin tanımlaması Jean Martin Charcot tarafından yapılmış ve Parkinson Hastalığı ismi verilmiştir (Jankovic, 2003). Kronik nörodejeneratif bir hastalık olup istirahat tremoru, rijidite, bradikinezi ve postüral bozuklukla kendini gösteren, bunun yanında motor olmayan semptomların da eşlik edebildiği kronik bir hastalıktır (Duvasion, 1937). Substansiya nigranın kompakta parçasındaki (SNc) nöronların dejenerasyonu ve sitoplazmalarında Lewy cisimciklerinin (LC) varlığı hastalığın klasik patolojik bulgularını oluşturur (Braak ve ark., 2003; Braak ve ark., 2006). PH’da tanı klinik, patolojik ve genetik olarak konunabilir.

2.2. Parkinson Hastalığı Epidemiyolojisi

Hastalığın prevelansı ile ilgili çalışmalarda oranlar 100 binde 14,6 ila 780 arasında değişmektedir (Çeliker, 2015). Başlangıç yaşı ortalama 50-60 yaş aralığında olup, Parkinson hastalığının genç yaşlarda da başlayabilir; tüm hastaların %5’inde hastalık 40 yaşından önce başlar. Yaş bazında incelendiğinde ise 65 yaş sonrası için bu oran %1,5-2 arasında, 85 yaş sonrası için % 3-5 oranlarındadır (Çakmur, 2003). Bu durumda genç başlangıçlı, 20 yaşın altında başlayan hastalarda ise Juvenil Parkinson hastalığından söz edilir (De Lau ve Breteler, 2006). Kimi çalışmalarda erkeklerin kadınlara oranla 1-5 kat daha fazla hastalığa yakalanma oranları olduğu belirtilse de, başka çalışmalarda aynı oranlar gösterilememiştir (De Lau ve Breteler, 2006). İnsidans oranları 100 bin kişide 10 ila 15 arasındadır. PH’nın tüm ırklar ve tüm etnik gruplarda görüldüğü bilinmektedir (Çakmur, 2003). Ancak hastalık en fazla beyaz ırka mensup Avrupalıları ve Kuzey Amerikalıları etkilemektedir. Bunu takiben Çin ve Japonya’daki Asyalılarda izlenmiştir. En düşük prevelans ise Afrika’daki siyah ırka mensup insanlarda görülmüştür. Ancak son dönemlerde yapılan çalışmalarda Çin ve Amerika’da yaşayan insanlarda hemen hemen eşit prevelansların olduğu gösterilmiştir (De Lau ve Breteler, 2006).

2.3. Parkinson Hastalığı Tanı Kriterleri ve Sınıflandırılması

PH için günümüzde uluslararası kabul gören tanı kriterleri halen Birleşik Krallık Parkinson Hastalığı Derneği Beyin Bankası tarafından oluşturulan tanı kriterleridir. Bu kriterlere göre hastalık tanısının konulabilmesi için dahil etme, dışlama ve destekleyici kriterler başlıkları altından hastaların değerlendirilmesi gerekmektedir. Tanı kriterlerinin detaylı listesi Tablo 2-1’ de gösterilmiştir (Hughes ve ark., 1992).

Tablo 2-1 Parkinson Hastalığı Tanı Kriterleri

Dahil Etme Kriterleri	Dışlama Kriterleri	Destekleyici Kriterler
Bradikinezi	Semptomların başlangıcında nöroleptik tedavi öyküsü	Kesin İPH tanısı için 3 veya daha fazlası gereklidir:
Aşağıdakilerden en az birisi bulunmalıdır:	Kesin ensefalit öyküsü	• Tek taraflı başlangıç
• Rijidite	Babinski bulgusu	• İstirahat tremoru
• 4-7 Hz istirahat tremoru	Tekrarlayan inmeler ve parkinsoniyen bulguların basamaklı seyri	• Başlayan tarafta belirgin olmak üzere kalıcı asimetri
• Postural instabilite	Serebellar bulgular	• Levodopa’ya çok iyi yanıt
	Supranükleer bakış felci	• Levodopa’ya yanıtın 5 yıl veya daha uzun sürmesi
	Tekrarlayıcı kafa travması öyküsü	• Progresif seyir
	Okulojirik krizler	• Klinik seyrin 10 yıl veya daha uzun sürmesi

Erken evrede ağır demansiyel bulgular
Nörogörüntülemelerde parkinsonizm tablosunu açıklayabilecek ek patoloji olması
Yüksek dozda Levodopa'ya yanıt alınamaması
Erken evrede otonomik bulgular
Hastalığın birden fazla akrabada bulunması
3 yıl sonrasında da belirtilerin tek taraflı seyretmesi
Sürekli remisyon
MPTP'ye maruz kalma

Parkinson hastalığının sınıflandırılması için dört ana başlık kullanılmaktadır. Bunlar Primer (idiopatik) Parkinson Hastalığı (İPH), Sekonder Parkinsonizm, Parkinson-Plus Sendromlar ve Herediter Dejeneratif Hastalıklardır. Bu dört ana kategorinin altında yer alan diğer alt sınıflandırmalar Tablo 2-2' de gösterilmiştir (Yaylalı, 2006; Çeliker, 2015).

Tablo 2-2 Parkinson Hastalığı Sınıflandırması

Primer (İdiopatik) Parkinsonizm	Sekonder Parkinsonizm	Parkinson-Plus Sendromlar	Hereditör Dejeneratif Hastalıklar
Parkinson Hastalığı	İlaça bağlı	Kortiko-Bazal Gangliyonik Dejenerasyon	Otozomal Dominant Serebellar Ataksiler
Juvenil Parkinson Hastalığı	İnfenksiyonlar	Demans Sendromları	Hallervorden-Spatz Hastalığı
	Metabolik	Alzheimer Hastalığı	Huntington Hastalığı
	Yapısal	Diffüz Lewy Body Hastalığı	Mitokondriopatiler
	Toksinler	Multipl Sistem Atrofi Sendromları	Nöroakantositozis
	Vaskülitler	Litico-Boding	Wilson Hastalığı
		Progresif Pallidal Atrofi	
		Progresif Supranükleer Palsi	

2.4. İdiyopatik PH Patofizyolojisi

Parkinson hastalığının patolojik belirleyicisi SNc'deki melanin içeren dopaminerjik hücrelerin kaybı, LC olarak adlandırılan sitoplazmik inklüzyonların varlığıdır. LC'nin ana komponenti alfa-sinükleindir. Alfa sinüklein nöron ve glialarda bol miktarda bulunan bir presinaptik protein olup fizyolojik rolü net bilinmemektedir. Parkinson hastalığında patoloji, alfa sinükleinin doğal kıvrılmamış ve çözünür formunun çevresel ve genetik faktörlerin etkisi ile yanlış katlanması ve β levhaları halinde agregasyonu ile başlar (Braak ve ark., 2003). Son zamanlarda yapılan çalışmalar Parkinson hastalığına ait ilk patolojik bulguların olfaktör bulbus ve beyin sapı yapılarından başladığını, daha sonra

SNC bölgesine yayıldığını ve hastalığın ileri evrelerinde ise kortikal yapılara ulaştığını göstermiştir (Dexter ve Jenner, 2013).

İPH'nın patolojik evrelemesinde presemptomatik evrede (Evre 1-2) inklüzyon cisimcik patolojisi medulla oblongata/pontin tegmentum ve olfaktor bulbus/ön olfaktor nukleusta sınırlıdır. Evre 3-4'te substantia nigra ile diğer ön ve orta beyin çekirdekleri de önce hafif daha sonra ciddi şekilde patolojik değişikliğe uğrarlar. Evre 3-4'te İPH'nın klinik fazı ortaya çıkar. Evre 5-6'da neokorteks de etkilenir ve hastalık tüm klinik boyutlarını gösterir (Del Tredici ve ark., 2002; Braak ve ark., 2004).

PH beyinde tanımlanmış nigrostriatal yolakta oluşan nöronal hasar ile doğrudan ilişkilidir. Bu yolak SNC bölgesindeki nöronların aksonlarından kaynak alır, diensefalonda medial ön beyin içine girer ve korpus striatumda sonlanır. Yolaktaki nöronlarda oluşan dejenerasyona bağlı olarak yeterince dopamin üretilmemesi ve dopaminerjik etkinliğin azalması hastalığın başlıca nedenidir (Thompson, 1985; Kuzuhara ve ark., 1988; Bakish ve Hooper, 1998; Çeliker, 2015). SNC'deki melanin içeren dopaminerjik hücrelerin kaybı ve kalan hücrelerin içinde de LC varlığı PH için tanımlayıcı sayılır (Gibb ve Lees, 1988; Kuzuhara ve ark., 1988).

Giderek yaygınlaşan uzman görüşlerine göre PH tek bir hastalık olarak adlandırmaktan ziyade farklı semptomların oluşturduğu bir sendromdur. PH'nın patogenezi net olarak aydınlatılmamakla birlikte karmaşık bir şekilde çevresel ve genetik faktörlerin yol açtığı mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres, enflamasyon; eksitotoksisite nedeniyle nigral dopaminerjik nöronal dejenerasyon olarak açıklanabilir. PH patogenezinde bozulmuş ve çökmüş protein artıklarının önemli rol oynadığı izlenmiştir. Bu da ubiquitin-proteazom sistemlerinin otofaji-lizozomal sistemlerindeki protein onarım ve temizleyici sistemler hakkında çalışmaları arttırmıştır (Cossette ve ark., 2005; Zaidel ve ark., 2009).

Hastalığın yaklaşık %10 kadarının ailevi olduğu savunulmuştur. Bir görüşe göre sporadik PH genetik yatkınlık taşıyan insanlarda çeşitli çevresel faktörlerin etkisi sonucu ortaya çıkmaktadır. SN'de 400.000 civarında nöron olduğu tahmin ediliyor ve ilk motor semptomun oluşması için hücre sayısının %60-%80 oranında azalmış olması gerektiği gösterilmiştir. Genellikle biyolojik olarak PH erken başlamasına rağmen semptomların

başlangıcı 60 yaş sonrasıdır. Klinik ve patolojik çalışmalar göstermiştir ki semptomların başlangıcına kadar hastalığın 4 ila 6 yıl arasında motor semptom göstermediği bir süreç mevcuttur (Fahn, 2003; Jankovic, 2005). Kazanılmış genetik kusurlar ve spontan gen mutasyonları, mutasyonlu protein üretimine ve apoptotik hücre yıkımına yol açabilir. Ancak kimi çalışmalarda idiyopatik PH hastalarında prenatal dönemde nigrostriyatal hasar sonucu normal dopaminerjik nöron sayısının daha az sayıda olduğu savunulmuştur (Fahn, 2003; Jankovic, 2005) .

2.5. Bazal Gangliyonlar

Ana görevi kontrol, ince ayar ve modülasyon olduğu düşünülen bazal gangliyonlar (BG) bu işlevi yerine getirebilmek için kontrol edip, ince ayarını yapacağı bölgelerden bilgi almak (afferent uyarılar) ve o bölgelere bilgi vermek (efferent uyarılar) durumundadır (Marsden, 1984). BG'ların afferent girdilerinin önemli bir kısmı frontal korteksten (motor korteks, premotor alan, suplamenter motor alan, singulat korteks, dorsolateral ve orbitolateral frontal korteks) bir kısmı da parietal korteksten gelir. Bazal gangliyonun temel afferent çekirdeği olan striatum bilgi akışını serebral korteksten alıp, direkt ve indirekt yollar ile BG çıkış kapısı olan Globus Pallidus internal segmenti (GPi) ve Substansiya nigra pars retikulataya (SNr) aktarır. Bu iki yolun, putamendeki başlangıç nöronları gamma aminobütrik asid (GABA) içeren hücreler olmakla birlikte nöropeptidleri ve reseptörleri farklıdır. Direkt yol, GABA ile substans P ve dinorfin içeren, D1 reseptörleri bulunan nöronlardan köken alırken; indirekt yol, GABA ile enkefalin kapsayan, D2 reseptörlerini içeren nöronlardan köken almaktadır. Subtalamik nukleus (STN) nörotransmitteri glutamat iken, diğer nukleusların nörotransmitteri GABA'dır. Kortikostriatal ve talamokortikal bağlantılar glutamat aracılığıyla eksitatör etki gösterirler (Jellinger, 1991; Gale ve ark., 2008).

2.5.1. BG İşlevsel Anatomi

Bazal gangliyonlar anatomik olarak iki ana subkortikal yapı olan striatum (kaudat, putamen) ve globus pallidus ile bunlarla bağlantılı iki orta beyin yapısı olan STN ve substansiya nigradan (SN) meydana gelmektedir. Kaudat ve putamen neostriatumu, globus pallidus ve substansiya nigra paleostriatumu oluşturur (Albin ve ark., 1989).

Bazal gangliyonların ana girdileri korteks, talamus, SNC'den ana girdi çekirdeği olarak adlandırılan neostriatuma gelir. Bu girdilerin büyük çoğunluğu striatumdaki orta büyüklükteki dikensi çıkıntılı nöronların (MSN) dendritlerinde sonlanır.

Neokorteksten girdiler alan bazal gangliyon yapıları bilgileri süzerek talamusun özgün çekirdekleri aracılığı ile tekrar kortekse iletir. Esas olarak öğrenilmiş hareket paternlerinin korteks tarafından başlatılmasını ve yürütülmesini modüle ederler (Cumhur ve ark., 2007).

2.5.2. Makroanatomik Organizasyon

Neostriatumdan çıkan aksonların ana hedefi globus pallidus eksternal segmenti (GPe), GPi ve SNr'dir. Striatumdan GPi ve SNr'ye uzanan MSN'ler direkt yolun başlangıcıdır. Sonrasında GPi ve SNr'den çıkarak direkt yolu oluşturan bu ana çıktılar talamusa uzanım gösterirler. Buradan da korteksin frontal bölgesine ulaşarak devreyi tamamlar. Direkt yolu başlatan striatal nöronlarda GABA'nın yanı sıra P maddesi ve dinorfin bulunur. GPi ve SNr ayrıca pedinkülopontin nukleus, superior kollikulus ve lateral habenulaya uzantılar gönderir (DeLong ve Wichmann, 2009).

Striatumdan GPe'ye uzanan MSN'ler ise indirekt yolun başlangıcıdır. GPe'den köken alan nöronlar ise STN'e uzanım gösterirler. STN ise glutamaterjik transmisyon ile GPi ve SNr'yi aktive eder. Yukarıda bahsedildiği gibi bazal gangliyonların ana çıktıları olan GPi ve SNr'de GABAerjik iletim ile talamusa inhibitör uzantılar gönderir (DeLong ve Georgopoulos, 1981).

Substansiya nigranın pars kompakta parçasının neostriatuma dopaminerjik girdileri vardır ve bu yol nigrostriatal yol olarak adlandırılır. Nigrostriatal yolun ana nörotransmitteri dopamindir. Nigrostriatal dopaminerjik modülasyon; direkt devreyi başlatan striatal nöronlar üzerinde aktive edici, indirekt devreyi başlatan striatal nöronlar üzerine ise inhibe edici yöndedir (Deumens ve ark., 2002).

Bazal gangliyonların anatomik bağlantıları ile ilgili en önemli nokta neostriatumun bazal gangliyonların ana girdi merkezi olduğudur. Neostriatumdan kortekse doğrudan uzanım olmadığından ya direkt GPi/SNr üzerinden talamusa ve oradan kortekse ya da indirekt yolla GPe üzerinden STN'ye, sonrasında bazal gangliyonların çıktı çekirdekleri olan

GPe/SNr'ye ve talamus yoluyla da kortekse bilgileri ulaştırırlar. Direkt ve indirekt yollar neostriatal çıkıntının çift yönlü doğasını belirler (Calabresi ve ark., 2014).

Substansiya nigra pars kompaktan gelen dopaminerjik aksonlar neostriatuma yaygın dallanmalar oluşturur ve bu dopaminerjik dallanmalar striatumu üç boyutlu bir kafes şeklinde sarar. Korteksten neostriatuma gelen aksonlar glutamaterjiktir ve bu afferentler ile nigrostriatal dopaminerjik girdiler arasında kritik bir etkileşim mevcuttur. Bu yollar arasındaki etkileşimin sonuçlarını daha çok dopamin salınmasının zamanlaması ve dopamin reseptörlerinin dağılımı belirler (Lee ve Tepper, 2009).

2.5.3. Striatumun Hücresel Organizasyonu

Striatum nöronlarının büyük kısmını orta büyüklükteki MSN'ler oluşturur. Bu nöronların dendritleri üzerindeki dikensi çıkıntıları nedeniyle bu isim verilmiştir. Çok yoğun dendritik çıkıntı içeren hücrelerdir. MSN'ler striatumun projeksiyon nöronlarıdır ve iki gruba ayrılırlar. İlk grup GPe'ye uzanarak indirekt yolu oluştururlar. İkinci grup ise GPe/SNr'ye uzanan gruptur ve direkt yolu oluştururlar. Striatumdaki diğer nöron grupları kolinerjik ve non-kolinerjik (GABA/Parvalbumin) ara nöronlardır (Nakano ve ark., 2000).

2.5.4. Substansiya Nigra Pars Retikolata

Substansiya nigra pars retikolata, ventral orta beyinde yer alan ve bazal gangliyon sisteminin esas komponentlerden biri olarak nitelendirilen bir yapıdır. SN'yi oluşturan iki temel yapı mevcuttur. Bu yapılar pars kompakta ve pars retikolata'dır. SNr, SN'nin büyük olan alt bölümüdür ve GABAerjik nöronlar içermektedir.

SNr bazal gangliyonlardaki önemli işlem merkezlerinden bir tanesidir. SNr'deki GABAerjik nöronlar bazal gangliyonlardaki son işlem bilgilerini talamusa ve superior kollikulusa taşır (Faull ve Mehler, 1978). Ayrıca SNr'nin en önemli fonksiyonlarından birisi de Snc'deki dopaminerjik aktiviteyi düzenlemektir. SNr'deki GABAerjik nöronlar spontan aksiyon potansiyelini oluşturabilmektedir. Bu aksiyon potansiyelinin ateşlenme oranı STN tarafından eksitator inputlar ile düzenlenmektedir. Ancak yapılan çalışmalarla aksiyon potansiyelinin daha çok otonomik olduğu tespit edilmiştir (Haber ve Groenewegen, 1989; Gibb, 1992). SNr'deki nöronların çoğunluğu GABAerjik nöronlardır. Yapılan bazı hücre kültürü çalışmalarında SNr'deki nöronların %66'sının

GABAerjik, %16'sının dopaminerjik olduğu görölmüşdür (Kim ve ark., 1997). SNr ana inputunu striatumdan alır. Bu iki yolla olmaktadır; direkt yolda striatumdan SNr'ye doğrudan bağlantı mevcuttur. İndirekt yolda ise bağlantı striatumdan GPe'ye, GPe'den STN'ye (GABAerjik), STN'den SNr (glutamaterjik)'yedir. Yani striatum SNr üzerinde inhibisyonu direkt yol üzerinden yaparken, eksitasyonu indirekt yol üzerinden yapmaktadır. SNr'nin efferenti talamus ve superior kollikulustur (Tepper ve Lee, 2007).

SNr ve GPi bazal gangliyon fizyolojisinde önemli bir role sahip olan ve bazal gangliyon ağı için çıktı nöronlarını içeren çekirdeklerdir. Bu çekirdeklerin nöronları GABAerjiktir ve majör hedef projeksiyonları talamus ve superior kollikuluslardır.

SNr'nin GABAerjik nöronları tonik, yüksek frekanslı, regüler ateşleme paternine sahiptir. Birçok iç ya da dış etken ile ateşleme paternleri azalabilir ya da artabilir. Bu intrinsik ya da ekstrinsik faktörlerin anlaşılması bazal gangliyonların motor hareketleri nasıl kontrol ettiğini ortaya çıkarmaya katkıda bulunacaktır (Parent ve ark., 2000; Gerfen ve Bolam, 2010).

GABAerjik SNr nöronları; orta-büyük büyüklükte ovoid ya da fusiform bir somaya sahip, sıklıkla 2-6 adet dendrit içeren nöronlardır. SNr nöronlarının ilk temel hedefi talamustur. Rodentlerde sinapsların birçoğu talamusun ventromedial çekirdeğiyledir. Primatlarda ise sinapsların çoğu talamusun ventroanterior ve ventrolateral çekirdeğiyledir (Grofova ve ark., 1982; Cebrián ve ark., 2007; Lee ve Tepper, 2007).

Nigrotalemik nöronların elektriksel stimölasyonu talamus nöronlarında kısa latanslı ve kısa süreli inhibisyona yol açmaktadır. Aksine SNr inhibisyonu talamik spontan deşarjların artışına neden olacaktır (MacLeod ve ark., 1980; Deniau ve ark., 1982; Tanibuchi ve ark., 2009b, 2009a).

SNr nöronlarının diğör temel hedefi superior kollikulustur. SNr'nin hareketin kontrolü ile ilgili olarak da beyin sapı motor nukleuslarına çoklu projeksiyonları vardır. Ayrıca SNr'nin GABAerjik nöronları SNC'nin dopaminerjik nöronlarını lokal kollateraller yolu ile inhibe edebilir. Tüm bu yönleri ile SNr hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda

hareketin kontrolünü etkileyebilmektedir (Deniau ve ark., 1982; Tepper ve ark., 1995; Saitoh ve ark., 2004).

SNr nöronları elektrofizyolojik kayıtlarda 1ms gibi kısa süreli, rodentlerde 25-30 Hz, primatlarda 65 Hz yüksek frekanslı spontan ateşleme yapan nöronlardır. GABA nöronlarında yüksek frekanslı otonom ateşleme intrinsik ve ekstrinsik olarak regüle edilir (Nevet ve ark., 2004; Wichmann ve Kliem, 2004; Windels ve Kiyatkin, 2006a; Windels ve Kiyatkin, 2006b).

2.5.5. BG Paralel Devreleri

Günümüzde varlığı kabul edilen haliyle motor devre ilk kez Alexander ve Crutcher tarafından tanımlanmıştır. Motor devrede, okulomotor, dorsolateral prefrontal, anterior singulat ve lateral orbitofrontal olmak üzere toplam beş devre vardır. Motor devre; motor, premotor, yardımcı motor alan ve somatosensoriyel alandan başlar ve putamene projekte olur. Direkt ve indirekt yollardan geçerek talamusa, oradan da tekrar motor kortekse bağlanır (Tekin ve Cummings, 2002).

Motor Devrenin Fizyolojisi

Kortikostriatal yollar striatuma somatotopik bir düzenleme içerisinde gelir. Direkt ve indirekt yola ait dikensi çıkıntılı nöronlara (MSN) gelen glutamaterjik kortikospinal projeksiyonlar farklılık gösterebilir. İstirahatte striatumdaki MSN'ler fizyolojik olarak sessizdir. GPe, GPi ve SN'de yer alan nöronlar ise tonik olarak aktif inhibitör GABAerjik nöronlardır. Direkt yolda yer alan MSN'lerin kortikostriatal glutamaterjik yolla uyarılması sonucu bu tonik inhibisyon kısa süreli durur. Böylece talamus ve superior kollikulus üzerindeki sürekli inhibisyon ortadan kalkar. Motor aktivite gerçekleştirilir. İndirekt yolda ise MSN'lerin uyarılması sonucunda ise SNr/GPi tonik aktivitesinde artışla birlikte motor inaktivasyon oluşur. Nigrostriatal yol aracılığı ile gelen dopamin ise striatumdaki yollar üzerinde modüle edici etki gösterir ve inhibisyon veya disinhibisyonun sürecini, şiddetini ve uzaysal dağılımını belirler (Alexander ve ark., 1991).

Striatumda her bir MSN'ye gelen kortikostriatal glutamaterjik afferent uzanım pallidal uzanıma geçerken filtrelenir. Striatuma gelen ve giden sinyaller arasında ciddi bir

filtreleme sistemi aracılığı ile kesin bir seçim yapılması gerekir. Bu aşamada dopamin önemli rol oynar. Nigrostriatal yol aracılığı ile gelen dopamin striatumdaki yollar üzerinde modüle edici etki gösterir ve inhibisyon veya disinhibisyonun sürecini, şiddetini ve uzaysal dağılımını belirler.

Direkt yolu oluşturan MSN'ler D1 reseptörü bulundururken, indirekt yolu oluşturanlar D2 reseptörü eksprese etmektedir. SNc'den gelen dopamin D1 reseptörleri üzerinde eksitasyona neden olurken, D2 reseptörleri üzerinden inhibisyona neden olmaktadır. Dopamin bu şekilde ikili bir etki göstermektedir. D1 reseptörleri aracılığı ile direkt yola projekte olan MSN'ler üzerinde aktivasyon meydana gelirken, D2 reseptörleri üzerinden indirekt yola projekte olan MSN'lerde inhibitör etki doğar. GPi direkt yol aracılığı ile inhibitör, indirekt yol (kortiko-GPe-STN-GPi) ile eksitator girdi alır. İndirekt yol aracılığı ile GPe inhibitör girdi almaktadır. Sonuçta GPi'nin toplam çıktısını belirlemede GPe'nin rolü büyüktür (Brunenberg ve ark., 2012; Freeze ve ark., 2013).

Benzer şekilde son dönemde tanımlanan, motor korteksten STN'ye ve oradan GPi/SNr'ye uzanım gösteren 'hiperdirekt' yolun, bazal gangliyonların organizasyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Buna göre artık STN'de bazal gangliyonların bir girdi çekirdeğidir (Brunenberg ve ark., 2012).

2.6. Serebellum

Serebellum kafa içinde arka çukur bölgesinde bulunur. Temel olarak 4. ventrikülün tavanını oluşturur. Toplam beyin hacminin %10'unu kaplar ancak beyindeki nöron sayısının yaklaşık yarısına sahiptir. Antik çağ anatomistleri tarafından kendine özgü işlevleri olan "ikinci" veya "küçük" beyin olarak nitelendirilmiştir (Ghez ve Thach, 2000).

Serebellar korteks 3 kattan oluşur. Bunlar;

1-Dış moleküler tabaka,

2-Orta Purkinje hücre tabakası,

3-İçte bulunan granüler hücre tabakasıdır.

Serebellum yapısal olarak; orta kısım (serebellar vermis) ve paravermian bölge ve yanlarda iki lateral lobdan (serebellar hemisferler) oluşur. Vermis başın ve gövdenin proksimal kısımlarından görsel, işitsel ve vestibüler uyarılar alır. Fastigial çekirdek aracılığı ile medial inen sistemleri kontrol eden kortikal ve beyin sapı bölgelerine uyarılar verir. Böylece göz hareketleri ile birlikte postür ve lokomasyonu denetler.

Neoserebellum (serebroserebellum, posterior lob, hemisferler) filogenetik olarak en yeni ve yapısal olarak en büyük kısımdır. Hem vermis hem de hemisferlerin primer ve posterolateral fissürleri arasındaki bölgeyi kaplar. Bu bölge karşı hemisferin neokortikal bölgelerinden kaynaklanan ana afferentlerini, ponsta ve inferior olivariusta bulunan ileti (relay) çekirdekleri aracılığı ile orta serebellar pedinkül üzerinden alır. Karşı hemisferlerin paleokortikal ve arşikortikal bölge afferentleri ise serebelluma ulaşmadan önce retiküler çekirdekler ve hipotalamustan geçerek gecikme çekirdeklerinde sinaps yaparlar. Yoğun kortikopontin bağlantıları nedeni ile serebroserebellum veya pontoserebellum adı da verilir. Temel çıktısı dentat çekirdektir. Efferentleri üst serebellar pedinkülden karşı taraf ventrolateral talamusa ve ruber çekirdeğinin hücreden fakir kısmına (parvosellüler) uzanır. Ruber çekirdeğine ulaşan nöronlar buradan inferior olivar çekirdeğe ve buradan da karşı serebelluma uzanarak bir geri besleme döngüsü oluştururlar. Parvosellüler nöronlar lateral premotor alanlardan da girdiler alır. Bu premotor-rubroserebellar döngünün hareketlerin zihinsel provasının yapılması ve olasılıkla motor öğrenme ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Ghez ve Thach, 2000).

Serebellum afferentleri esas olarak orta ve alt serebellar pedinkülden gelirler. Bunlar spinoserebellar, küneoserebellar, olivoserebellar, vestibüloserebellar ve pontoserebellar ve daha küçük birtakım yolları içerirler. Ek olarak folyaları ve aynı taraftaki kabuk bölgelerini birbirine bağlayan lifler de vardır. Serebellar korteks içinde afferent lifler miyelin kılıflarını yitirirler ve yosunsu (mossy) veya tırmanıcı liflere dönüşürler. Bu lifler serebellar çekirdeklere uzanarak eksitator uyarıyı ulaştırır. Buna birincil serebellar devre adı verilir. Fizyolojik çalışmalar a) tırmanıcı liflerin Purkinje hücre dendritlerine kuvvetli uyarıcı etki yaptıklarını, b) paralel liflerin çapraz sinapslar yolu ile Purkinje hücrelerini uyardıklarını, c) serebellar kabuktaki stellat, basket ve Golgi hücrelerinin inhibe edici ara-nöronlar (internöronlar) olduklarını göstermiştir. Serebellar kortekste ki karmaşık sinirsel

bilgi işlemin net sonucu Purkinje hücreleri aksonları ile iletilen GABA-aracılı inhibisyonudur (Ghez ve Thach, 2000).

Serebellumun her iki taraftaki beyaz cevherinin içinde 4 çift çekirdek yapısı bulunur. Bunlar; fastigial, globoz, emboliform ve dentat çekirdeklerdir. Dentat çekirdek ayrı bir yapı olarak yalnızca memelilerde bulunur. İnsan ve maymunlarda (şempanzelerde) oldukça büyüktür. Her ikisinde daha eski dorsomedial kısım (paleodontat), daha büyük ve yeni ventrolateral kısım (neodontat) olarak ikiye ayrılabilir. Bu çekirdek evrimsel olarak en son gelişen yapıdır ve talamusa en yoğun uzantılar gönderen serebellum kısmıdır. Bu efferentler somatotopik olarak talamusun parvosellüler ventral posterolateral ve ventral lateral çekirdeklerine ve oradan da birincil motor kortekse uzanır (Ghez ve Thach, 2000; Voogd, 2003).

2.6.1. Serebellum Genel Bağlantıları

Serebellum tüm vücut kısımlarından uyarılar alır. Gelen liflerin çoğu orta ve alt pediküllerden serebelluma girer. Az bir kısmı ise üst serebellar pedikülden ulaşır. Gelen liflerin (afferent) çıkan liflere (efferent) oranı 40:1 dir.

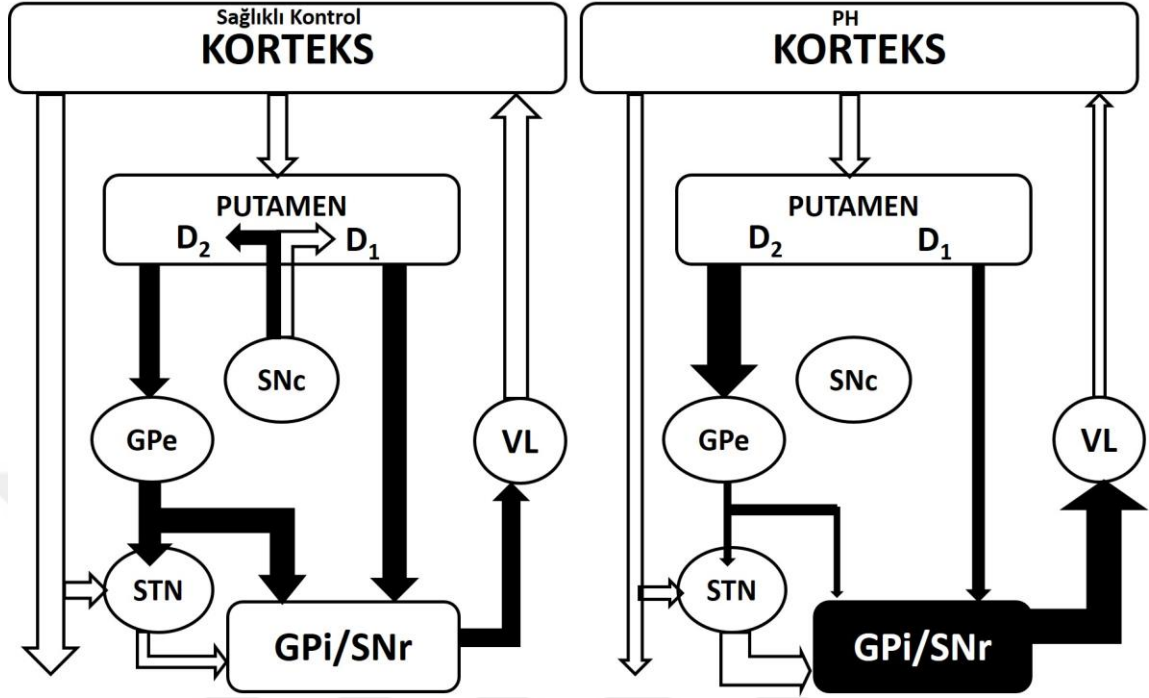
Lateral serebellar bölgelerin (serebeoserebellum veya neoserebellum) girdileri serebral korteksten kaynaklanır (Ghez ve Thach, 2000). Bu girdiler pons çekirdeklerinden gelir ve buradan da orta serebellar pedikül yolu ile karşı taraf dentat çekirdeğe yönelir ve lateral serebellar kabukta yosunsu lifler olarak sonlanırlar. Lateral serebellar korteksin Purkinje nöronlarının aksonları dentat çekirdeğe uzanır. Dentat aksonların çoğunluğu da serebellumu üst serebellar pedikülden terk eder. Bu liflerin iki ana sonlanma bölgeleri vardır. Bunlardan ilki karşı taraf ventrolateral talamustur ki bu bölge serebellumun interpositus çekirdeklerinden de lifler almaktadır. Bu hücreler beyin kabuğunun (serebral korteks) premotor ve primer motor bölgelerine uzantılar verir. Dentat çekirdeklerin ikinci ana sonlanma noktası ise karşı taraf parvosellüler ruber çekirdeğidir. Bu bölge interpositus çekirdeklerinden uzanım almayan ruber çekirdeği bölgesidir. Bu bölge nöronları inferior olivarius çekirdeğine uzanır ve buradan da karşı taraf serebelluma tırmanıcı lifler ile uzanarak bir geri besleme döngüsü oluştururlar. Parvosellüler nöronlar dentat çekirdeğin yanı sıra lateral premotor alanlardan da uzantılar alır.

2.7. Parkinson Hastalığında Nöroanatomik Devreler

2.7.1. Bazal Gangliyonlar

PH ile ilgili bilinen en temel bilgilerden birisi SNe’deki dopaminerjik nöronlarda meydana gelen kayıptır. Buna bağlı olarak striatumda dopamin azlığı meydana gelir ve bazal gangliyonlar arası sinyal ileti mekanizmaları değişime uğrar. Bu durum talamokortikal yolun inhibisyonuna yol açar ve PH semptomları görülmeye başlar. Dopamin azalması sonucu D1 reseptörü ile ilgili striatal nöronların eksitasyonunda azalma meydana gelir. Bu durumda direkt yoldaki sinyal aktivitesinin azalması ile sonuçlanır. Aynı zamanda D2 üzerindeki inhibisyonun kalkması sonucu striatumdan GPe bölgesine giden indirekt yolda göreceli olarak artış meydana gelir.

Dopamin azalmasına striatal nöronların farklı yanıtlar verdiği bilinmektedir. Dopamin azalması sonucu striatal nöronlarda direkt yoldaki aktivite azalırken, indirekt yolda böyle bir değişim olmadığı gösterilmiştir. Bu sebeple dengenin indirekt yol lehine kaydığı birçok çalışma ile gösterilmiştir. GPe aktivitesi indirekt yolun aracılığı ile striatumun sağladığı inhibisyon sonucunda azalmıştır. GPe aktivitesi azalması, GPe’nin STN üzerindeki inhibisyonunun kalkmasına sebep olur. Bunun sonucu STN daha serbest hale gelir ve glutamaterjik çıktı ile talamusu inhibe eden çıktı çekirdeklerinin aktifleşmesine sebep olur. Bunun sonucunda ortaya hareketin baskılanması çıkmaktadır. BG’nin PH’de ve sağlıklı bireylerde değişimi Şekil 2-1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1 PH'de Nöroanatomik Mekanizmalar

2.7.2. Motor Devre

PH'da striatumdaki dopamin azalmasına bağlı olarak motor devredeki denge yapısı bozulmaktadır. Dopamin etkisinin azalması sonucu çıkış çekirdekleri olan GPi/SNr'nin aktivitesinde artmaya neden olmaktadır. Bu artış beklenildiği üzere talamus ve PPN'nin inhibisyonuna sebep olur. Dopaminerjik kayıp, nigrostriatal yolun geri dönüşümsüz dejenerasyonuna ve ardından bazal gangliyon motor devresinin nörotransmisyonunda patolojik değişikliklere neden olan ve karakteristik Parkinson semptomlarına yol açan striatal dopaminerjik denervasyona neden olur (Albin ve ark., 1989; Parent ve Hazrati, 1995).

Parkinson hastalığında, SNc'den dopaminerjik girdi yavaş yavaş kaybolur ve direkt yol sinyalinde bir azalmaya neden olur. İndirekt yolak, çıkış çekirdeğindeki STN ile aktivitesini artırır ve talamus üzerinde inhibe edici etkiye sahiptir.

2.8. İdiyotik PH Bulgular

PH semptomatik özellikleri incelendiğinde ilk semptomun genel olarak tek taraflı bir ekstremitede başladığı görülmektedir. Bunun ardından aynı taraftaki diğer ekstremiteye yayılım ve hastalık ilerledikçe tutulum bilateral ekstremitelerde olur. Fakat hastaların neredeyse hemen hepsinde, hastalık seyri boyunca semptom başlangıcı olan tarafta tutulum daha belirgindir. Hastalık, yavaş progresif seyirlidir ve hastalığın seyri her hastada farklıdır (Akboşancı, 2008). Primer motor belirtiler; bradikinezi, tremor, rijidite, postural dengesizlik ve yürüme bozukluğudur. Ancak hipokinetik konuşma, maske yüz, mimiklerde azalma, bacak distonisi, mesane disfonksiyonu gibi diğer motor belirtilerde görülebilmektedir (Adler ve Ahlskog, 2000; Paulson ve Stern, 2004). PH’ da izlenen bulgular Tablo 2-3’de detaylı olarak gösterilmiştir.

Tablo 2-3 Parkinson Hastalığı Bulgular

Primer Motor Belirtiler	Diğer Motor Belirtiler	Otonom Belirtiler	Kognitif Belirtiler	Duysal Belirtiler	Psikiyatrik Belirtiler
Bradikinezi	Hipokinetik Konuşma	Termoregülasyon Bozukluğu	Demans	Ağrı	Depresyon
Tremor	Maske Yüz	Ortostatik hipotansiyon	Bradifreni	Uyuşma ve karıncalanma	Anksiyete
Rijidite	Mimiklerde Azalma	Empotans		Olfaktör defrisit	Panik atak
Postural Dengesizlik	Bacak Distonisi	Kabızlık Hipersalivasyon		Akatizi	İlaca bağlı halüsinasyon
Yürüme Bozukluğu	Mesane Disfonksiyonu	Mikrograf Seboreik Dermatit			

2.8.1. PH'de Yürüme Bozukluğu

Hastanın günlük yaşam aktivitesini en fazla etkileyen ve yaralanmalara yol açan motor semptom yürüme bozukluğudur. Yürüme bozukluğu, hastalığın her evresinde farklı olabildiği gibi her hastada farklı şiddette olabilir. Tipik olarak, hastalar küçük adımlarla, yavaş ve ayaklarını sürüyerek yürürler. Hastalık ilerledikçe, antefleksiyon postüründeki hastalarda hipokinetik yürüme gelişir ve adım mesafeleri kısalmıştır. Dönüşler yavaşlamış, çok adımlı ve bloklar şeklindedir. Donma veya motor blok durumunda ise hasta yürürken aniden ayakları yere yapışmış gibi kalır (Snijders ve ark., 2016).

En sık karşılaşılan yürüme bozukluğu şekli yürüyüşe başlamada tereddüt veya dönme esnasında tutukluktur. Sonuç olarak bu hastalar tekrarlayıcı motor görevlerde özellikle de planlı ise güçlük çekmektedirler. Ancak Parkinson hastaları duysal rehberler kullanarak motor defisitlerini kompanse edebilirler. Parkinson hastalarının birçoğunda gözlenen bu bulgu klinikte görsel bir uyaran varlığında motor hareketi başlatabilmesi ve devam ettirmesi değerlendirilerek ortaya konabilir. Örneğin yürümeye başlamada güçlük çeken bir hasta, zemine yerleştirilmiş bir blok görüp bunun üzerinden atlayarak adımlamayı başlatabilir. Klinikte bu paradoksal yürüme olarak adlandırılmaktadır. Bu bulgunun altında yatan patofizyolojik mekanizma şöyle hipotez edilmektedir: Planlanmış motor hareketin başlatılmasında supplementer motor alan (SMA) önemli rol almaktadır ve bu korteks alanının lezyonunda planlı hareket başlatılamaz ya da güçlük çekilir. Dorsolateral prefrontal korteks de (DLPFK) planlı hareketin başlatılmasında SMA' ya yardımcı rol oynar. Parkinson hastalığında bazal gangliyonlardan talamus aracılığı ile SMA'ya gelen girdilerde patoloji mevcuttur. Bu nedenle harekete başlamada güçlük görülür. Yapılan çalışmaların sonuçları tartışmalı olsa da genel kanı Parkinson hastalığında lateral premotor korteks ve parietal assosiasyon alanlarının etkilenmediği yönündedir. Etkilenmemiş olan bu devreden parietal assosiasyon alanı görsel bir uyaran varlığında aktive olur. Parietal assosiasyon alanının da lateral premotor korteks ile bağlantısı vardır. Lateral premotor korteks görsel uyaranla tetiklenmiş motor hareketi bu yolla (kortikospinal yolak ile bağlantılı olduğundan) başlatabilir (Majsak ve ark., 1998; Okuma, 2006).

Motor hareket sırasında SMA' nın planlanmış hareketin oluşumunda önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Bu görev sırasında DLPFC, SMA ile birlikte görev görür. SMA

lezyonlu primatların görsel olarak tetiklenen eylemleri daha kolay yaptıkları ama hareketin önceden öğrenilmiş ya da planlı sekanslarını yapamadıkları gösterilmiştir. Putamen, majör kortikal projeksiyonlarını talamus aracılığı ile SMA'ya gönderir. Parkinson hastalarında supplementer motor alanın aktivitesi bu nedenle bozulmuştur ve yürümeye başlamakta güçlüğü de ana nedeninin bu olduğu düşünülmektedir. Talamus motor nukleuslarından projeksiyonlar SMA dışında dorsolateral prefrontal kortekse, orbitofrontal kortekse, anterior singulat kortekse de ulaşmaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar Parkinson hastalığında SMA, DLPFC aktivasyonunda anlamlı derecede bozulma olduğunu göstermiştir. Ancak lateral premotor korteks ve primer motor kortekste benzer aktivasyon bozukluğu gözlenmemiştir. Elektrofizyolojik kayıtlar da göstermiştir ki SMA da öğrenilmiş ardışık istemli hareketin başlatılması ve sürdürülmesinde anlamlı derecede yüksek ateşleme paterni ortaya çıkar. Lateral premotor kortekste ise görsel ipuçları ile yönlendirilen motor hareketlerde aktivite belirgin olarak artmıştır. Lateral premotor korteks inferior ve superior parietal assosiasyon alanlarından girdiler alır. Parietal assosiasyon alanı bazal gangliyonlardan girdi almamaktadır. Bu nedenle genel kanı Parkinson hastalığında lateral premotor korteks ve parietal assosiasyon alanlarının etkilenmediği yönündedir (Blandini ve ark., 2000; Shibasaki ve ark., 2004).

2.9. İdiyopatik PH Tedavisi

PH' de SNc dejenerasyonunun nedeninin tam olarak anlaşılamamasından dolayı tamamen önleyici tedavi mevcut değildir (Çeliker, 2015). Hastalığın tedavisi semptomatiktir. Henüz nöroprotektif ya da hastalığın seyrini değiştirebilecek tedavi bulunamamıştır. Mevcut durumda üç farklı PH tedavisi uygulanmaktadır: fiziksel tedavi ve sağlık eğitimi, medikal ve cerrahi tedavi.

İlaç tedavisinde azalan dopamin düzeyini artırmak ya da dopamine benzer etki oluşturmak amaçlanmaktadır. Bu amaçla dopamin salınımını artırıcı ya da vücutta dopaminin etkisini artıran ilaçlar kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçlar hastalığın sadece belirtilerini geçici olarak gidermektedirler ve zaman içinde doz artırımına gerek duyulmaktadır. Kullanılan ilaçlara bağlı çeşitli yan etkilerde oluşmaktadır (Karataş, 2005; Savaş ve Akbostanci, 2008).

Fizyoterapi ve rehabilitasyonun amacı; hastalığın yol açtığı problemleri en aza indirmek, hastayı var olan limitasyonları içerisinde maksimum bağımsızlık düzeyine ulaştırmak ve yaşam kalitesini yükseltmektir (Francisco ve ark., 2007).

Cerrahi tedavi; medikal tedaviden yeterince yararlanamayan hastalar için tercih edilmektedir. Parkinson hastalığının cerrahi tedavisinde başlıca iki tür stereotaktik yöntem uygulanmaktadır: bunlardan birincisi lezyon temelli uygulamalardır, ikincisi ise nörostimulasyon uygulamalarıdır (Katzenschlager ve ark., 2002; Lang ve Lees, 2002; Pahwa ve ark., 2006).

2.9.1. İdiyopatik PH Medikal Tedavi

Parkinson hastalarındaki dopamin eksikliğinin keşfiyle birlikte levodopa (L-DOPA, l-3,4-dihydroxyphenylalanine) kullanımı başlamıştır. Hastalığın halen en etkili ve altın standart olarak kullanılan ilacı levodopadır (Kalineri ve ark., 2011). Dopamin kan-beyin seddini geçemediğinden dolayı tedavide prekürsörü olan levodopa kullanılır. Dopaminerjik ilaçların kullanımı motor semptomları baskılar. Levodopa genel olarak karbidopa veya benserazid ile kombine edilir. Karbidopa periferik dekarboksilaz inhibitörü olarak barsaklarda levodopanin dopamine dönüşümünü engellemekle beraber periferik yan etkilerini (iştahsızlık, bulantı, kusma) azaltır (Savitt ve ark., 2006; LeWitt, 2008). Levodopanin ana yan etkileri bulantı, doz sonu kötüleşmesi fenomenini kapsayan motor komplikasyonlar, diskinezi ve açık-kapalı dönemlerin varlığı, konfüzyon, görsel halüsinasyonlar, ortostatik hipotansiyon olarak gösterilebilir. Levodopa tedavisinden 4-6 yıl içerisinde %40'a varan oranda motor fluktuasyon ve diskineziler izlenmektedir. Levodopa kullanımı dopamin agonistleri ile karşılaştırıldığında doz sonu kötüleşmesi (wearing off) fenomenini kapsayan motor komplikasyonlar, diskinezi ve açık-kapalı dönemlerin (on-off fenomeninin) daha sık görüldüğü saptanmıştır. Yaşlı hastalarda ise levodopa kullanımı ile motor komplikasyon gelişme riski daha azdır ve yaşlı hastalar diğer antiparkinson ilaçların nöropsikiyatrik yan etkilerine daha duyarlıdır (Kostic ve ark., 1991). Özellikle bradikinezi ve rijidite üzerine etkili olan levodopa tedavisi en etkin tedavi seçeneği olarak kullanılmasına karşın “wearing off” ve diskinezi benzeri motor komplikasyonların ortaya çıkmasına sebebiyet vermesi kullanım açısından özellikle 70 yaşından genç, ılımlı semptomları olan hastalarda dopamin agonistleri güvenli ve etkili

tedavi alternatifi olarak görülmektedir (Kostic ve ark., 1991). 5 yıllık izlemlerde daha az motor komplikasyon insidansı bu ajanları ön plana çıkarmıştır (Rinne, 1987). Her iki tedavi yöntemi de hastalığın erken evrelerinde monoterapi olarak etkili olmak ile beraber ileri evrelerde levodopa tedavisi ile beraber kullanılabilir Dopamin reseptör agonistleri 2 majör alt gruba ayrılmaktadır: 1-Ergot türevleri (bromokriptin, pergolid, lisurid, kabergolin). 2 Ergot türevleri olmayanlar (piripedil, pramipeksol, ropinirol, apomorfin, rotigotin) (Andersen ve Jansen, 1990). Ergot türevleri ilk dopamin agonist ilaçlar olmasına rağmen kalpte fibrotik valvuler hastalık yapma riski nedeniyle kullanımları oldukça kısıtlıdır ve ilk tedavi seçeneği olarak düşünülmemelidir. Diğer dopamin agonistlerinin ise oral (pramipeksol, ropinirol) , transdermal (rotigotin), subkutan (apomorfin) formları ve günde tek doz kullanım avantajı olan uzun etkili formları mevcuttur (Andersen ve Jansen, 1990). Uzun etkili formlar motor dalgalanmaları azaltmak amacı ile ilaç plazma konsantrasyonunu sabit tutar. Dopamin reseptör agonistlerinin enzimatik aktivasyon yapmamaları, daha uzun etkileri olması ve reseptöre selektif olmaları nedeniyle daha az yan etkileri olması levodopaya olan üstünlükleridir (Group, 2000). Bu ajanlar levodopa tedavisinin yan etkilerinin izlenmesini geciktirmek için kullanılan diğer tedavi seçeneklerinden biridir. Levodopanin motor komplikasyonlarının ortaya çıkmasını geciktirirler. Aynı zamanda levodopa dozunun daha düşük kullanılması ve komplikasyonların az görülmesi açısından ikili tedavi olarak da kullanılabilir. Dopamin reseptör agonistlerinin halüsinasyon, konfüzyon, bulantı, postural hipotansiyon, somnolans ve alışveriş yapma, yeme, hiperseksualite gibi impuls kontrol bozukluklarını artırır. Suda çözünen Apomorfin subkutan olarak enjekte edilerek diğer dopamin agonisti olarak off dönemleri arasındaki dalgalanmaları önlemek amacı ile kullanılır. Hem D1, hem D2 reseptörlerini, dopamine benzer şekilde etkilemesi nedeniyle en kuvvetli dopamin agonistidir. Emetik etkisinin kuvvetli olması nedeniyle hastaya ilacı vermeden önce domperidon tedavisi verilmelidir. Selejilin ve rasajilin striyatumda dopamin yıkımını azaltarak selektif MAO-B inhibisyonunu sağlar (Erer ve Zarifoğlu, 2008). MAO-B inhibitörlerinin semptomatik etkileri göreceli olarak azdır. KOMT inhibitörleri levodopanin periferde KOMT enzimi ile yıkımını önlerler. O yüzden tek başına kullanımda etkileri yoktur, daima levodopa ile kullanılmalıdır (Cuello ve ark., 1973; Meyer-Lindenberg ve ark., 2005). Entekaponun kullanımına bağlı diyare bildirilmekle

beraber, tolkaponun hepatotoksisite yan etkisi nedeniyle sınırlı kullanımı mevcuttur. Amantadin influenza enfeksiyonuna karşın kullanılmakta olan bir ajan iken, PH için yararlı olduğu bulunmuştur (Brenner ve ark., 1989). Hastalığın erken evresinde etkili olmakla beraber ileri evrelerde motor dalgalanmaları azalttığı gösterilmiştir. Amantadin etkisini striatumda veziküllerden dopamin salınımını arttırarak, antikolinerjik etkisi ve glutamat NMDA reseptörlerini bloke ederek yapmaktadır. Antikolinerjik ajanlar (triheksifenidil, benztropin) levodopanın keşfinden önce PH tedavisinde sıklıkla kullanılan ajanlardır. Etkisi özellikle tremor üzerinedir. Erken dönemde ve dopamin replasman tedavisine ek olarak kullanılırlar (Katzenschlager ve ark., 2002). Konstipasyon, üriner retansiyon, glokom ve kognitif yan etkileri nedeniyle yaşlı hastalarda kullanımı sakıncalıdır. Son olarak da, glutamik asit dekarboksilaz (GAD), tirozin hidroksilaz 20 (TH), aromatik amino asit dekarboksilaz (AADC), GTP-siklohidrolaz-1 (GCH-1) ve nörotropik faktör genler, kök hücre tedavileri üzerine araştırmalar sürmektedir (Coune ve ark., 2012; Allen ve Feigin, 2014).

2.9.2. İdiyopatik PH Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon

Parkinson hastalığının tedavisinde, fizyoterapi ve rehabilitasyon yaklaşımları, normal fonksiyonun ve bağımsızlığın devam ettirilmesi amacıyla diğerk tıbbi tedavilerin yanında önemli bir yer tutmaktadır. Rehabilitatif yaklaşımları fizyoterapi, konuşma tedavisi ve iş-uğraşı tedavisi olarak üçe ayırmak mümkündür (Keus ve ark., 2009).

Parkinson hastalığı kronik nörodejeneratif bir hastalık olduğu için, ilerleyici olan fonksiyonel kapasitedeki bozulma, hastanın bağımsızlığında kayıp ve yaşam kalitesinde azalma ile sonuçlanmaktadır (Francisco ve ark., 2007; Keus ve ark., 2009). Rehabilitasyon programının en önemli hedefi hastanın hareket ve fonksiyonel kapasitesini arttırmak, bağımsızlık düzeyini artırarak, yaşam kalitesini arttırmak ve toplumsal hayata yeniden dönmesini sağlamaktır. Fizyoterapi rehabilitasyon programları sadece bozulan fonksiyonları tedavi etmeye yönelik değil, aynı zamanda ortaya çıkacak sorunları önlemeye yönelik olmalıdır. Bunun için fizyoterapi ve rehabilitasyon programı mümkün olan en erken dönemde başlamalıdır. Bu amaçla fizyoterapi programı; mobilitayı korumak ve dengeyi arttırmak, yürüme ve motor kontrolün yeniden öğrenilmesini sağlayan postüral instabilitenin düzeltilmesi, eklem hareket açıklığının korunması, eklem kontraktürlerinin

önlenmesi, rijiditenin azaltılması, postüral deformitelerin düzeltilmesi, solunum kapasitesini arttırmak, ince el becerilerini arttırmak, konuşma ve yutmanın düzeltilmesi, ağrıların azaltılması, kas zayıflığının ortadan kaldırılması amacıyla uygulanmaktadır (Francisco ve ark., 2007).

2.9.3. İdiyopatik PH Cerrahi Tedavi

Parkinson hastalığı, medikal tedaviden yeterince yarar sağlanamadığı dönemde cerrahi tedaviden belirgin ölçüde yarar gören nörodejeneratif bir hastalıktır (Savaş ve Akbostancı, 2008). Parkinson hastalığı ve diğer hareket bozuklukları 1950'li yıllara kadar tedavisi mümkün olmayan hastalıklardı. Bu hastalıkların tedavisindeki ilk etkin ve düşük riskli cerrahi yaklaşımlar stereotaktik nöroşirürjinin geliştiği yıllarda başlamıştır. Dünya'daki gelişmelere uygun olarak, Türkiye'de de Parkinson hastalığının cerrahi tedavisi 1960'ların başında bazı kliniklerde uygulanmaya başlamıştır (Apaydın ve ark., 2000; Akbostancı ve ark., 2001; Francisco ve ark., 2007).

Parkinson hastalarında medikal tedavi her zaman için ilk seçenek olmalıdır. Parkinson hastalığının cerrahi tedavisindeki başarı oranı, doğru endikasyon koyulmasına bağlıdır. Cerrahi tedavi hastalığın orta veya ileri dönemlerinde yapılmaktadır. Ancak ilerlemiş Parkinson hastalarında başta tremor olmak üzere ilaç tedavisi ile yeteri kadar kontrol altına alınamayan veya L-Dopa'ya bağlı olarak gelişen motor komplikasyonları önlenemeyen, hastalığı erken başlangıçlı olan, kognitif bozukluğu ve başka majör medikal problemi olmayan ve beyin görüntüleme tetkikleri normal olan hastalarda cerrahi tedavi uygulanmaktadır. Parkinson hastalarında uygulanan cerrahi yöntemler üç grup altında toplanabilir (Keus ve ark., 2009).

A) Ablasyon/ lezyon temelli uygulamalar

B) Nörostimülasyon uygulamaları

C) Transplantasyon/ nörorejeneratif uygulamalar

Lezyon temelli uygulamalar, talamotomi ve pallidotomide olduğu gibi hareket bozukluğuna yol açan merkezlerde radyofrekans ile lezyon (harabiyet) oluşturulmasıdır. Nörostimülasyon uygulamaları ise başlıca derin beyin yapıları olan, STN, pallidum

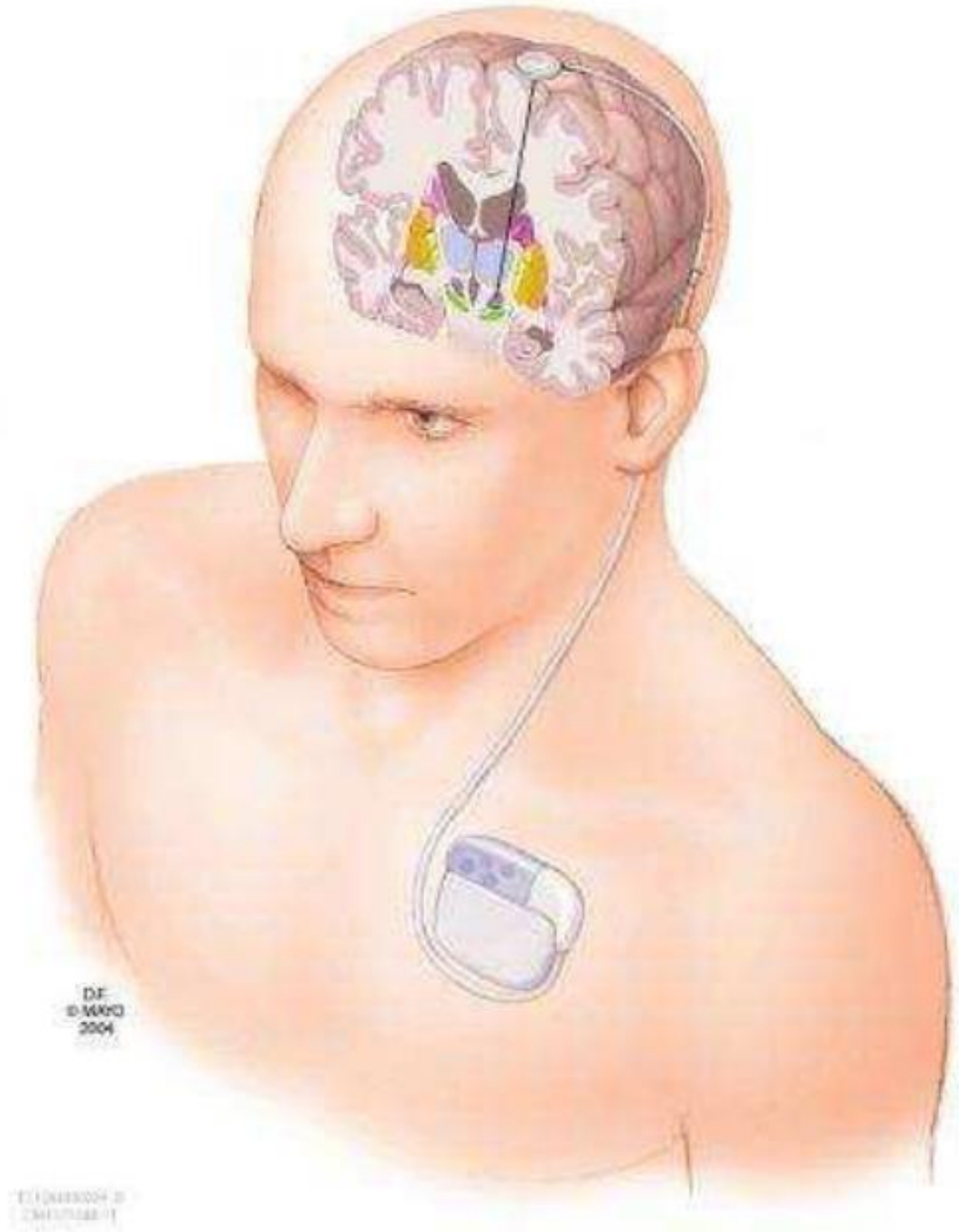
(internal-posterior segment) ve talamus (nucleus ventrointermedius) gibi merkezlere yüksek frekanslı stimölasyonun yerleştirilmesidir. Nörostimölasyon yöntemleri, kalıcı lezyon oluşturmaması, etkinin ayarlanabilir olması ve bilateral uygulanabilmesinden dolayı daha fazla hastada kullanılmaktadır. Cerrahi tedaviler ile hastaların progresyonunu durdurmak mümkün değildir. Ancak semptomatik olarak kontrol sağlanmaktadır (Baba ve ark., 2005; Francisco ve ark., 2007).

2.10. Derin Beyin Stimölasyonu

Antik çağlardan bu yana elektriksel stimölasyon tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Torpedo balıklarının elektrik kaynağı olarak ağrı tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Fodstad ve Hariz, 2007). Beyinde ilk kez elektriksel stimölasyon ise Columbia Üniversitesi'nde o dönemlerde yaygın olarak kullanılan ablatif psikoşirürji prosedürlerine alternatif bir yöntem olarak depresyon ve anoreksiyaya eşlik eden Parkinson Hastalığı olan bir kadına uygulanmıştır. Açık kraniotomi sırasında hastanın kaudat nükleusuna gümüş bir elektrot yerleştirilmiştir. 1950'lere gelindiğinde benzer prosedürler diğer hekimlerce de uygulandı (Mogilner ve ark., 2001). Spiegel ve ark. tarafından 1947 yılında nöroşirürjide bir devrim olarak nitelendirilen stereotaktik yöntemlerin kullanımına ilişkin ilk makale yayınlandı. 1961 yılında Spiegel ve Wycis bu yöntemle elektrodların daha invazif yöntemlere gerek olmadan yerleştirilebileceğini duyurdular (Spiegel ve ark., 1961). PH tedavisinde levodopa kullanılmaya başlanana kadar kullanılan tek tedavi yöntemi stereotaktik ablazif yöntemlerdi. Talamus ve GPi bölgelerinde lezyon oluşturulmadan önce elektrik stimölasyonu bu bölgeler rutin bir şekilde uyarılıp oluşturulacak lezyonun efektifliği ve yan etkileri kontrol ediliyordu (Spiegel ve ark., 1961). Hassler ve ark. tremor şiddetinin değişiminin bu stimölasyonun frekansına bağlı olarak değiştiğini gözlemledikleri bir makale yayınladılar. Düşük frekansın tremoru arttırdığı, yüksek frekansların ise tremoru baskıladığını keşfettiler (Hassler ve ark., 1960).

Levodopa'dan sonra psikoşirürjinin giderek gözden düşmesi üzerine altmışlı yılların sonunda beyin stimölasyonunun tek endikasyonu kronik ağrı olarak kaldı. 20. Yüzyılın başında İngiliz nörologlar Head ve Holmes non-nosiseptif somatosensöriyel sistem aktivasyonunun analjezik etkileri olduğu hipotezini öne sürdüler. 1965 yılında Melzak ve Wall tarafından dorsal horn'daki ağrı prosesi hakkında "Gate-control" hipotezi

yayınlandı. Bu hipoteze göre dorsal kolondaki pozisyon, vibrasyon ve diskriminatif dokunma afferent fiberlerinin uyarılması, ağrı taşıyan afferent fiberlerin bloklanmasına neden oluyordu. Bu hipotez ağrı için spinal kord stimülasyonunun temel çalışma prensibini ortaya koyuyordu. Bu hipotezler doğrultusunda yetmişli yılların başında Fransız Mazars ve Amerikalı Hosobuchi talamik stimülasyon ile ağrının kontrol edilebileceğini öne sürdüler (Hosobuchi ve ark., 1973; Mazars ve ark., 1974). Medtronic tarafından “Deep Brain Stimulation” olarak patent alınan ilk ticari cihazlar bu dönemde ve sadece ağrı için kullanılmak üzere üretilmişlerdi. Fakat tedavideki yetersiz sonuçlar ve tedavinin spinal kord stimulatorlerinin gölgesinde kalması bu modalitenin FDA onayı almasına engel oldu. 1987’de Benabid ve arkadaşlarının tremor tedavisinde yüksek frekanslı Vim DBS kullanarak başarılı tedaviler gerçekleştirdiklerini yayınlamaları, DBS teknolojilerinde yeni bir çağın başlangıcı olarak kabul edilmektedir (Benabid ve ark., 1987). PH için ilk STN DBS vaka raporu 1993’de, GPi DBS vaka raporu 1994’de; Distoni için ise ilk GPi DBS vaka raporu 1999 yılında yayınlanmıştır. Hareket bozukluklarının tedavisinde DBS’in bu başarısı tremor için talamik DBS’in 1997 yılında Amerika’da FDA onayı almasıyla sonuçlandı. Daha sonra bunu PH için Gpi ve STN DBS, distoni için GPi ve STN DBS, obsesif-kompulsif bozukluk (OKB) için internal kapsül anterior bacağı DBS ve epilepsi için kapalı devre DBS tedavisinin FDA onayı alması takip etti (Alonso ve ark., 2015; TekriwAl ve BAiTuch, 2015). DBS için yeni endikasyonlar ve yeni odakların bulunması hayvan deneyleri ve vaka raporlarıyla başlamış olup, bunu küçük çaplı randomize çalışmalar izlemiştir. Günümüzde SANTE (Stimulation of the Anterior Nucleus of the Thalamus for Epilepsy) gibi geniş ölçekli, multisentrik, çift-kör klinik çalışmalar yapılabilmektedir (Fisher ve ark., 2010). Şekil 2-2’ de DBS ve pil yerleşimi temsili olarak gösterilmiştir (Çeliker, 2015).



Şekil 2.2 DBS elektrod ve pil yerleşimi temsili gösterimi

2.10.1. DBS Çalışma Mekanizması

DBS ile ilgili en tartışmalı konulardan biri çalışma mekanizmasıdır ve günümüzde bu konu ile ilgili birçok araştırma yapılmaktadır (Kringelbach ve ark., 2010). Güncel literatüre göre fokal stimülasyonun beyin networkleri üzerinde hem lokal hem de uzak etkilerinin olduğu aşıkardır. Tartışmalı ve bilinmeyen kısım bu etkilerin nasıl bir yolla oluştuğudur. Erken dönemlerinde, DBS'in ablatif yöntemlerle oluşturulan lezyonlarla aynı kliniği vermesine dayanılarak yapılan DBS'in, basit tabirle, geri döndürülebilir fonksiyonel bir lezyon oluşturduğu veya sadece fizyolojik bir blokaj oluşturduğu hipotezi ancak kısmen doğrudur. Yeni modellerin özellikle üzerinde durduğu nokta; DBS'in beyin networklerindeki patolojik sinyal aktivitesini baskılayıp bozduğudur. ("Jamming") Bunu hangi mekanizmalarla yaptığı şu an sinirbilimin en yoğun cevabını aradığı sorulardan birisidir (McIntyre ve Hahn, 2010). DBS'in fonksiyonel bir lezyon oluşturduğunu kanıtlayan birçok veri olmasına rağmen, birçok yeni çalışmada DBS'in aktiviteyi arttırdığına dair bulgular da vardır. Beyinde aksonal yolların stimülasyonunun belirgin pozitif yanıtları olduğu bilinmektedir. Örneğin; internal kapsüldeki kortikospinal fiberlerin uyarımı sonucu motor kasılma veya optik sinir stimülasyonu sonucu fosfenlerin algılanması gibi. Bunlar stimülasyonun bu yolları aktive ettiğinin tartışmasız kanıtlarıdır. Hem distal aksonal projeksiyonlardaki sinapslarda salınan nörotransmitter miktarını mikrodializ yöntemiyle ölçen hem de stimülasyonun distalindeki nöronal hedeflerdeki fizyolojik etkileri gösteren DBS deneylerinin ortak paydası; DBS'in hedefinin sinyal çıkışını aktive ettiğidir. Stimüle edilen hedefin eksitatuvar veya inhibitor olmasına göre postsinaptik nöronun cevabı DBS'in etkisini oluşturmaktadır (François Windels ve ark., 2005). Bu bilgilere ek olarak, aynı anda karşıt mekanizmalar da aktif olabilir. DBS'in aynı anda hem eksitasyon hem inhibisyon yaptığını gösteren bir modelde DBS sonucu soma ve akson elektriksel anlamda birbirinden ayrılabilirdiği gösterilmiştir. Bu durum somatik inhibisyon sonucu afferent nöronların susmasına ve aksonal eksitasyon sonucu efferent nöronların aktive olmasına neden olur (McIntyre ve ark., 2004). Hangi nöral yapıların uyarıldığı, hangi maddelerin bu uyarı sonucu ne miktarda salındığı, yerel sinaptik ağlar, stimülasyon parametreleri (akım, elektrodun fiziksel özellikleri...) gibi birçok değişken DBS'in klinik etkisini belirlemede rol alır. DBS'in klinik etkisi bu birçok farklı mekanizmanın cebirsel toplamı ile ortaya çıkar. DBS mekanizmasını anlamak için

önemli bir başka noktaysa beyindeki hangi nöral elementlerin uyarıldığı ve bunların elektrik stimülasyonuna olan rölatif duyarlılıklarının tespitidir. DBS'in hücre gövdesi, aksonlar, dendritler ve glia üzerindeki etkiler ayrı ayrı değerlendirilmelidir. Uyarılabilir bir membranın depolarizasyonu membrandan elektriksel yükün geçmesini gerektirir. Durağan bir transmembran akım oluşturan kısa süreli bir stimulus için, transfer edilen elektrik yükü akım ve zaman ile doğru orantılıdır. Klasik öğretilere göre, nöronal elementlerin stimülasyonuna cevap vermelerinde bir hiyerarşi vardır (Ranck Jr, 1975). Örneğin, miyelinli santral sinir sistemi (SSS) aksonları sahip oldukları 50-100 ms arasındaki chronaxie (uyarılma eşiğini ölçü birimi) ile 200-700 ms arasındaki bir chronaxieye sahip olan hücre gövdelerinden daha önce uyarılır. Benzer bir şekilde kalın aksonlar ince olanlardan, miyelinli olanlar miyelinsiz olanlardan daha önce uyarılır. Yüksek akım durumunda ise (yaklaşık eşik değerinin 8 katı) aksonlardaki aksiyon potansiyellerinin bloklandığı ortaya konulmuştur. Bu bilgiler ışığında elektrot ucuna yakın nöral elementlerin bloke olduğu, biraz uzaktakilerin ise uyarıldığı söylenebilir. Bir diğer önemli husus da akımın uyarılan dokuya göre oryantasyonudur. Aksonlara paralel olan voltaj farkları en efektif stimülasyonu sağlar. Farklı stimülasyon parametrelerine bağlı çok çeşitli klinik durumlar bu mekanizmalar sonucu ortaya çıkabilir. Bu yüzden ideal klinik sonuç ve en az yan etki için stimülasyon parametrelerinin optimize edilmesi önem arz etmektedir. DBS'in lokal mikro çevrede etkilerinin anlaşılması da gün geçtikçe önem kazanan bir durumdur. DBS sonucu dakikalar hatta saniyeler içerisinde alınan tremor ve ağrıya yanıt, DBS'in çok kısa süreler içerisinde yol açtığı nörotransmitter (GABA, Adenozin vb...) salınımı, depolarizan blok, patolojik frekansların önlenmesi, soma/akson elektriksel ayrışması, soma hiperpolarizasyonu gibi durumlarla açıklanabilmektedir. DBS'in uzun sürede ortaya çıkardığı anksiyolitik, antiepileptik, antidepresan etkiler nöroplastisite kavramıyla yani stimülasyon noktasının distalindeki ve proksimalindeki nöronal ağın nörotransmitter salınımının modülasyonu, uzun dönem potensiyalizasyon ve depresyon, konnektivitede değişim veya nörogenesis induksiyonu ile açıklanabilir (Lozano ve Lipsman, 2013).

Tablo 2-4 DBS Etki Mekanizmaları

DBS'in Hedef Nöron Aktivitesini İnhibe Etme Mekanizmaları	DBS'in Hedef Nöron Aktivitesini Aktive Etme Mekanizmaları	DBS'in Hedefi Hem Aktive Hem İnhibe Etme Mekanizmaları	DBS'in Patolojik Osilatuar Paternleri Bozma Mekanizmaları
Depolarizan blok (K, Na etkisi ile)	Efferent projeksiyonlarda glutamat artışı	Soma/akson ayrışması (soma inhibisyonu, akson aktivasyonu)	İrregüler salınım yapan nöronların düzenli yüksek frekans salınım yapar duruma gelmesi
Sinaptik disfonksiyon	PH'de SNe'de kalan nöronlarda dopamin artışı	Plastisite (uzun dönem potansiyalizasyon, uzun dönem depresyon)	Prokinetik frekansların sağlanması ve patolojik beta bandı frekanslarının azaltılması
Nörotransmitter tükenmesi (glutamat)			“Jamming” sinyal oluşturmaları
Nöronal hücre gövdeleri ve dendritlerin hiperpolarizasyonu			Tropik etkiler, nörotropin salınımını arttırarak yeni nöron oluşturmaları (Nörogenesis)
Inhibituar nörotransmitter salınımı (GABA, adenosine)			
Afferent projeksiyonların sinaptik inhibisyonu			

2.11. BDNF

Nörotrofinler, nöron büyümesi hayatta kalımı ve farklılaşmasını kontrol eden bir protein ailesidir. Nörotrofin terimi ilk kez 1988'de Purves ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (Purves, 1988). Nörotrofinler hem periferik sinir sisteminde hem de santral sinir sisteminde nöron büyümesi ve hayatta kalımı regüle ettiği gibi apoptozu da kontrol edebilir. Memelilerde dört temel nörotrofin üyesi tanımlanmıştır: nöron büyüme faktörü (NGF), BDNF, Nörotrofin-3 (NT-3), Nörotrofin-4 (NT-4) (Skaper, 2012; Lewin ve Carter, 2014). Bu nörotrofinlerden NGF ilk tanımlanan nörotrofindir. Bundan yaklaşık 30

yıl sonra Barde ve arkadaşları domuz beyninden nöronal survival faktör izole etmişler ve BDNF olarak isimlendirmişlerdir (Barde ve ark., 1982). Temel yapısı ve beyindeki ekspresyonu tam olarak 1989'da tanımlanmıştır (Leibrock ve ark., 1989).

Beyin-türevli nörotrofik faktör (BDNF) santral sinir sisteminde birçok kompleks fizyolojik süreci kontrol eden, iyi bilinen bir nörotrofik faktördür. Santral sinir sisteminde oldukça yaygın olarak bulunur ve nörotrofin ailesinin bir üyesidir. Diğer büyüme faktörleri gibi başlangıçta prekürsör protein olarak sentezlenir (proBDNF) (Pruunsild ve ark., 2007). Biyolojik etkilerini tirozin kinaz reseptör B'ye (TrkB) bağlanarak gösterir. Büyüyen nöronlarda BDNF temel olarak hayatta kalma ve farklılaşmaya aracılık eder. Olgun nöronlarda ise sinaptik transmisyonu arttırdığı, sinaptik plastisiteyi modüle ettiği bilinmektedir (An ve ark., 2008).

Fetal ve erken postnatal gelişim dönemlerinde BDNF ekspresyonu farklı modifikasyonlar gösterebilir. Erişkin memeli beyninde ise aktiviteye dayalı temelde regüle edilebildiği net olarak ortaya konmuştur. BDNF ekspresyonunun modifikasyonu birçok SSS olayına cevaben ortaya çıkabilir. Biyoelektrik aktivitede fizyolojik değişiklikler BDNF ekspresyonunu modüle edebilir. Örneğin; hipokampusta uzun dönem potansiyeli (LTP) uyaran elektriksel stimülasyon, BDNF ekspresyonunu arttırmaktadır. Biyoelektrik aktivitedeki spontan değişiklikler veya farmakolojik manipülasyon ile ortaya çıkan aktivite, invitro koşullarda BDNF, mRNA ekspresyonunu modifiye eder. Ayrıca farklı şekillerde duysal uyaranlar da ilgili santral sinir sistemi yapılarında BDNF ekspresyonunu değiştirmektedir (Patterson ve ark., 1996).

BDNF ve bununla ilişkili proteinlerin rolleri özellikle nörofizyolojik ve nöropsikiyatrik hastalıklarda son yıllarda ilgi çekmektedir. Örneğin beyin iskemisi BDNF ekspresyonunu tetikleyebilir. Bu da BDNF'nin endojen rejenerasyonda rolü olduğuna işaret eder.

BDNF'nin tüm transkript varyantları aynı pre-pro-BDNF proteininden sentezlenir. BDNF proteini endoplazmik retikulumda prekürsör protein pre-pro-BDNF olarak sentezlenir. Bu protein daha sonra sinyal peptidinin ayrılması ile pro-BDNF oluşur. Daha sonra ikinci bir bölünme işlemi ile matür BDNF sentezi tamamlanır. Bazı çalışmalarda proBDNF ile matür BDNF'nin aynı sekretuar veziküller içinde kolokelize olduğu gösterilmiştir. Bu da

bölünmenin sekretuar veziküllerde olabileceğini desteklemektedir. BDNF daha sonra trans-golgi ağı aracılığıyla regüle edilen sekretuar yolağa girer ve salınım alanına transfer edilir. Aksonlarda BDNF hızlı aksonal akımla taşınır ve salınır, post-sinaptik nörona aktiviteye bağımlı temelde transfer edilir. Dendritlerde BDNF'nin distale taşınması ve salınımı aktiviteye bağımlı olarak gerçekleşir ve kalsiyum akımı gerektirir (Begni ve ark., 2017).

Matur BDNF ve/veya proBDNF biyolojik etkilerini iki farklı reseptör tipine bağlanarak gösterir. Yüksek afinite ile TrkB, düşük afinite ile p75 nörotrofin reseptörlerine bağlanırlar. BDNF, TrkB reseptörüne bağlandığında reseptör dimerizasyonuna neden olur ve hücre içinde bir takım sinyal iletim yollarının aktivasyonu gerçekleşir. Bunlar mitojenle etkileşen protein kinaz (MAPK), fosfolipaz C (PLC-Y) ve fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) (Yoshii ve Constantine-Paton, 2010; Bathina ve Das, 2015).

BDNF hızlı etkilerini PLC-Y aracılığıyla gerçekleştirirken, daha yavaş etkilerini PI3K ve MAPK aracılığıyla gerçekleştirir. TrkB reseptör aracılığıyla hücre içi yollar programlı hücre ölümünü önleyici, nöronal farklılaşmayı tetikleyici alt yolları aktive etmektedir. Nöropsikiyatrik bazı hastalıklarda veya Alzheimer hastalığı, Parkinson Hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda TrkB ilişkili sinyal yolağı aktivasyonunun azaldığı bulunmuştur (Allen ve ark., 2011; Markram ve ark., 2011; Lu ve ark., 2013; Begni ve ark., 2017).

Nöronal aktivite; sinapslarda sinaptik nörotransmisyonun gücünü veya etkinliğini değiştirerek nöronal devreleri modifiye edebilir. Nöronal plastisitenin en iyi bilinen şekli LTP oluşumudur. LTP'nin indüklenmesine NMDA reseptör kompleksinin aktivasyonu anahtar bir rol oynar. Hücre içi kalsiyum artışı ve birçok alt yolağın devreye girmesi ile gerçekleşir. Diğer anahtar olaylardan biri de BDNF gibi büyüme faktörlerinin salınımıdır. BDNF'nin özellikle hipokampal LTP oluşumunda anahtar rol oynadığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Markram ve ark., 2011; Begni ve ark., 2017).

2.12. c-FOS

c-fos proteini 380 aminoasit içeren bir proteindir ve hemen erken gen (IEG) ailesinin bir üyesidir (Herrera ve Robertson, 1996). Protoonkogen olarak bilinmektedir. İlk olarak Greenberg ve arkadaşları tarafından fibroblastlarda gösterilmiştir (Greenberg ve Ziff, 1984). C-fos gen ekspresyonu birçok gen aracılığı ile hızlı ve geçici olarak ortaya çıkabilir (Fisch ve ark., 1987). Bu nedenle c-fos proteininin geni, hücrede uyarıya karşı ilk yanıt veren gen ailesindendir. Bu ailenin üyeleri hücrenin büyüme, çoğalma ve farklılaşması ile ilişkili transkripsiyon faktörü olarak işlev görürler. IEG üyesi olan c-fos nüklear bir transkripsiyon faktörüdür (Roche ve ark., 1999). Aynı zamanda protoonkogen grubundandır (Stachowiak ve ark., 1990). c-fos proteinin ekspresyonu çeşitli mitojenler ve hücre farklılaşmasını uyaran moleküller ile uyarılabilir. Bu nedenle c-fos ve benzeri genlere protoonkogen denilmektedir. Protoonkogenler sadece tümorogeneziste değil normal büyüme ve farklılaşmada da önemli görev almaktadırlar.

c-fos proteininin ekspresyonunun artması çeşitli uyarı tiplerinin ardından nöron gruplarının nukleuslarında gözlenmiştir. Bu nedenle c-fos gen ekspresyonu SSS'de nöron aktivitesini yansıtan bir belirteçtir. Deneysel çalışmalarda da nöronal aktivite göstergesi olarak kullanılmaktadır. Böylece sinir sisteminde hangi tip nöron grubunda aktivitenin değiştiğini saptamada yani beyin haritalamasında kullanılır.

Beyin dokusunda nöronal gen ifadesi, nöronal aktiviteye cevap olarak dinamik bir şekilde değişmektedir. Özellikle erken büyüme yanıtı-1 (EGR-1), c-fos, arc gibi çok erken yanıt veren genlerin ifadesi hızlı değişir ve öğrenme, hafıza oluşumu ile ilişkili beyin bölgelerindeki nöron alt gruplarında selektif olarak artar (Minatohara ve ark., 2016). IEG ekspresyonu bu nedenle nöron popülasyonları için moleküler bir belirteç olarak kullanılabilir. Bu gruptan c-fos proteininin immunohistokimyasal incelemesi nöroanatomik bağlantılar için bir belirteç olarak kullanılması önerilmektedir. Ayrıca c-fos immunohistokimyası bu amaçla birçok fizyolojik ve patofizyolojik süreci değerlendirmede artık yaygın olarak kullanılmaktadır. Nöron hücresinde bazal düzeyde c-fos ifadesi mevcuttur. Davranışsal stres, bir takım ilaçlar, beyin bölgelerinin farklı şekillerde stimülasyonu ya da epilepsi gibi hastalıklarda nöbet sonrası c-fos ekspresyonu tetiklenebilir (Morgan ve ark., 1987).

Hücre dışından gelen sinyaller hücre fonksiyonlarını farklı yollarla modüle edebilmektedir. Bu sinyaller hücre fonksiyonlarını gen ifadesinin regülasyonu yoluyla etkilemektedir. Membrandan geçen moleküller nüklear reseptörleri etkileyerek direkt olarak gen ifadesini modüle edebilirler. Hücre membranı reseptörü ile etkileşen moleküller ise hücre içi ikincil mesajcıların seviyesini değiştirir ve indirekt olarak spesifik genlerin ekspresyonunu etkilerler. Hücre içi gen ekspresyonunu etkileyen bu yollar; farklı proteinlerin fosforilasyon oranının modüle edilmesi, kalsiyum gibi iyon akımında değişiklik ve iyon kanallarının modifikasyonunu içermektedir.

IEG'ler stimülasyon sırasında hızla aktive olan genlerdir. Transkripsiyon faktörleri ile kodlanırlar ve hedef genler olarak bilinen diğer genlerin ekspresyonunu modifiye ederler. Sonuç olarak eksternal sinyaller hücrenin fenotipik ekspresyonunu değiştirebilir (Okuno ve ark., 2012).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ve Histoloji Anabilim Dallarında yapılmıştır. Çalışmada 280-300 gr ağırlığında erkek Wistar sıçanlar kullanılmıştır. Deneyler öncesi sıçanlar özel kafeslerinde, sabit sıcaklıkta, 12 saat ışık-karanlık döngüsünün sağlandığı laboratuvarında barındırılmıştır. Besin ve su alımı isteğe göre serbest bırakılmıştır.

3.1. Gruplandırma

Sıçanlar rastgele dört farklı gruba ayrılmıştır. Bu gruplar:

- Sağlıklı hayvan grubu (Kontrol) (n=10)
- Bilateral striatal 6-OHDA lezyonlu deneysel Parkinson grubu (n=9)
- Bilateral striatal 6-OHDA lezyonlu + Bilateral SNr elektrod yerleştirilen ancak stimülasyon uygulanmayan grup (Parkinson + Sham Stimülasyon) (n=7)
- Bilateral striatal 6-OHDA lezyonlu + iki hafta boyunca bilateral SNr stimülasyonu uygulanan grup (Parkinson + SNr Stimülasyon) (n=7)

3.2. Cerrahi İşlemler

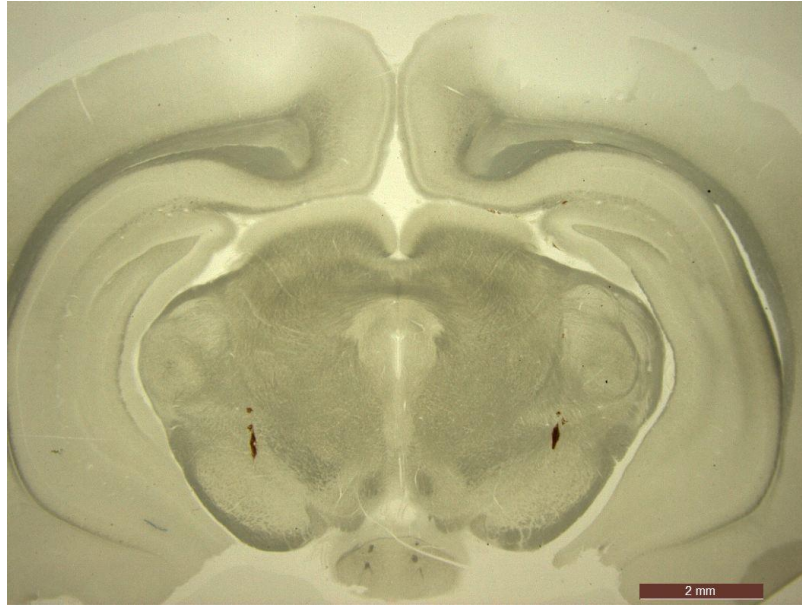
3.2.1. Deneysel Parkinson Modelinin Oluşturulması

Deney hayvanları Ksiazin (10 mg/kg) + Ketamin (90 mg/kg) anestezisi altında stereotaksik aparata yerleştirilmiştir. Kafatasına, Paxinos-Watson atlasında bilateral cauda-putamen bölgesi hedef alınarak belirlenen koordinatlara göre (bregmaya göre koordinatlar; AP:0,7, L: 3,4, V:5.0) 2 adet burr hole açılmıştır. 6-OHDA uygulanacak hayvan grubuna, hazırlanan solüsyondan (%0,9 salin ve %0,2 askorbik asitli µl'sinde 5 µg 6-OHDA'lı solüsyon) bilateral olarak kaudaputamene 3 µl uygulanmıştır. Enjeksiyon hızı 0,5 µl/dk olarak ayarlanmıştır. Enjeksiyon kanülü işlem后会 sonra 3 dakika yerinde bırakıldıktan sonra çıkarılmıştır.

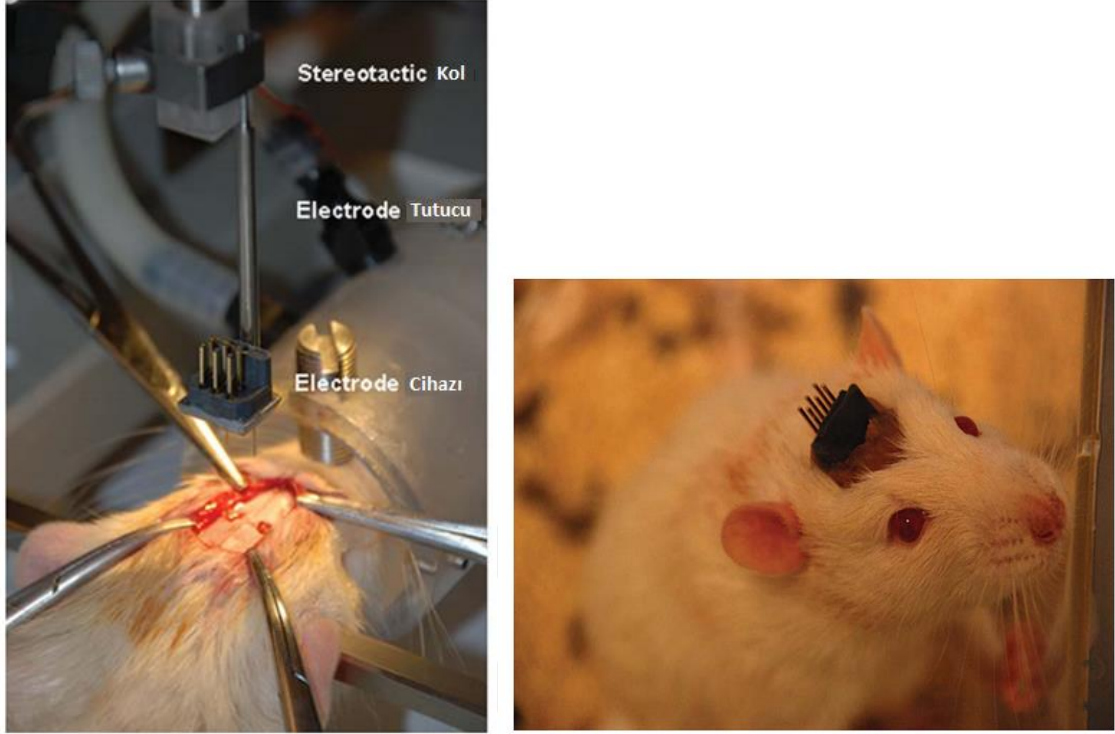
3.2.2. Substansiya Nigraya Elektrot Yerleştirilmesi

Deney grubu sıçanlara 6-OHDA enjeksiyonu ile aynı seansta yani hayvanlar stereotaksik aparatı Ksilazin (10 mg/kg) + Ketamin (90 mg/kg) anestezisi altında iken elektrod yerleştirilmiştir. Elektrod için yine Paxinos ve Watson atlası rehber alınarak daha önce ön çalışmamızda belirlediğimiz SNr koordinatlarına göre kafatasına 2 adet burr hole açılmıştır. Elektrod yerleştirmeden önce kafatasına 2 ya da 3 adet minyatür vida yerleştirilmiştir (1x2 mm çapında).

Her iki SNr bölgesi için koordinatlar; AP: -4,8, L:2.5, V:-7 olarak belirlenmiştir (Weiss ve ark., 2013). SNr bölgesine yerleştirilmek üzere, iç kablosu platinum-iridyum kombinasyonu olan, uç çapı 50 µm ve Çıft çapı 250 µm olan, bilateral ve konsantrik özellikte elektrodlar (Technomed, Beek, Hollanda) kullanılmıştır. SNr elektrod lokalizasyonu Şekil 3-1’ de gösterilmiştir. Cerrahi işlem sırasında bir hayvandan örnek prosedür ve tamamlanmış cerrahi işlem sırasıyla Şekil-2a ve Şekil-2b’ de gösterilmiştir. Elektrod sement kullanılarak yerine sabitlenmiş ve kafa derisine dikiş atılarak hayvanlar iyileşmeye bırakılmıştır.



Şekil 3.1 SNr Elektrod lokalizasyonu



Şekil 3.2 a) Sterotaksik cerrahi işleminden bir örnek, b) cerrahi işlem prosedürü tamamlanmış bir sıçan

3.2.3. Derin Beyin Stimülasyonu

DBS için WPI Acupulser A-310 modeli stimülator, WPI A-365 izolatör kullanılmıştır. Stimülasyon için literatür ile uyumlu olarak 130 hz frekansında, 60 μ s puls genişliği parametreleri uygulanmıştır (Sugiyama ve ark., 2006; Temel, 2013).

Amplitüd aralığı, deney sırasında her bir sıçan için diskinezi ortaya çıkaracak amplitüd eşiğinin altında uygulanmıştır. Bunu belirlemek için 20 μ A düzeyinde stimülasyona başlanmış ve bir dakika aralıklarla 20 μ A arttırılmıştır. Herbir hayvan için 80 μ A amplitüd stimülüs 14 gün ve hergün 3 (üç) saat uygulanmıştır. DBS için kullanılan stimülator Şekil 3-3'te gösterilmiştir.



Şekil 3.3DBS için kullanılan stimülatör

3.3. Parametreler

3.3.1. Davranışsal Testler

Deney gruplarında motor hareket, denge ve yürümenin değerlendirilmesi amacıyla rotarod testi, lokomotor aktivite ve ayak izi analizleri incelenmiştir. Bu analizler cerrahi prosedürden 14 gün sonra yapılmıştır.

3.3.1.1. Locomotor Aktivite

Locomotor aktivite, açık alan aktivite görüntüleyici sistem (MAY 9908 model Aktivite Görüntüleyici Sistem: Commat Ltd, Türkiye) ile ölçülmüştür (Kayir ve Uzbay, 2004). Bu sistem, kızılötesi fotoseller ile donatılmış sekiz plastik cam kafesten (42 cm x 42 cm x 30 cm) oluşmaktadır. Kafeslerin yan bloklarında, yerden 4,5 cm yükseklikte ve 2,5 cm aralıklarla on beş yayıcı ve algılayıcı fotosel çifti bulunmaktadır. Diğer on beş fotosel çifti ise yerden 11,5 cm yukarıya yerleştirilmiştir. Fotosel ışınlarının kesilmesi IBM-uyumlu bir bilgisayar sistemi ile belirlenmektedir. Deney hayvanının lokasyonu ise 0,1 s hassasiyetteki yazılım ile hesaplamaktadır.

Eğer deney hayvanının lokasyonu tamamen değişirse bu durum ambulator aktivite olarak ifade edilmektedir. Işınların kesilmesine neden olan fakat lokasyonu değiştirmeyen diğer davranışsal cevaplar horizontal aktivite olarak ifade edilmektedir. Yükselme gibi

vertikal hareketler ise yerden 11,5 cm yukarıya yerleştirilen fotoseller aracılığıyla belirlenmektedir. Sistem ayrıca, toplam lokomotor aktivite ve alınan mesafeyi de vermektedir. Tüm parametreleri test etmek için deney hayvanı açık alanın tam ortasına koyulmuş ve 5 dakika boyunca kayıt alınmıştır (Kayır ve Uzbay, 2004). SNr DBS grubu hayvanların test boyunca stimlasyonları devam etmiştir. Locomotor aktivite testi için kullanılan sistem şekil 3-4' de gösterilmiştir.

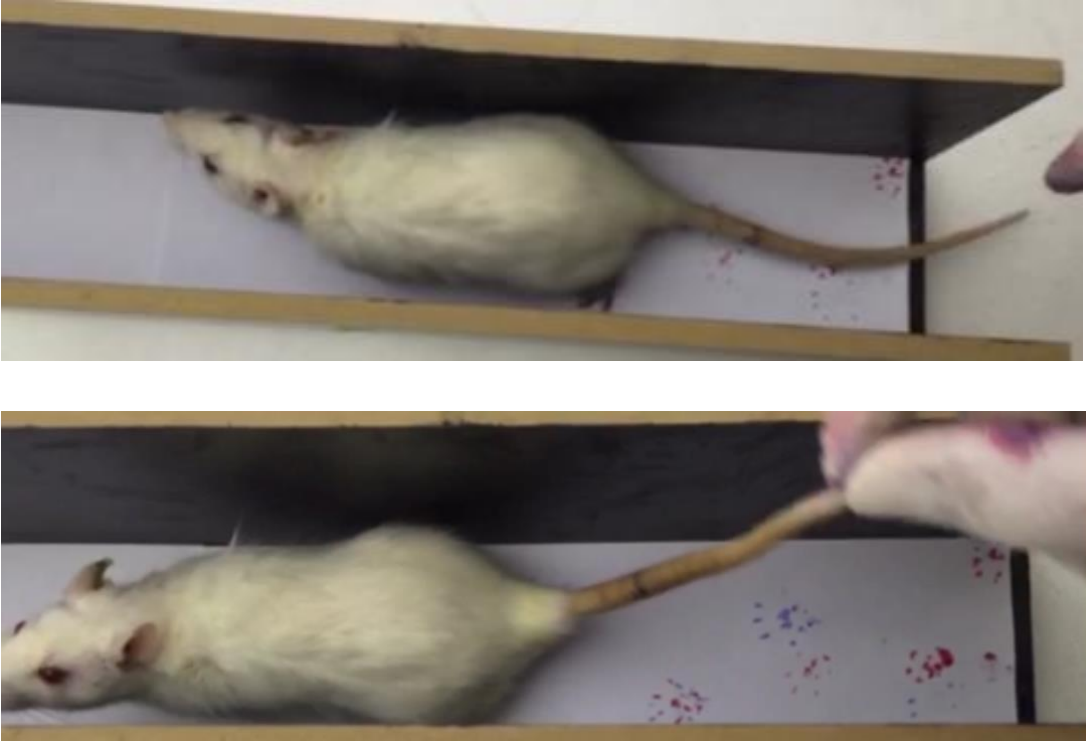


şekil 3.4 Locomotor Aktivite Testi

3.3.1.2. Yürüme Analizi

Elektrod yerleşimini takiben 14 gün sonra her bir sıçanın yürüme analizi ayak izi metodu ile yapılmıştır. Bu amaçla 50 cm uzunluğunda, 7 cm genişliğinde yanları kapalı, üzeri beyaz kağıt kaplı bir yürütme platformunda hayvanlar yürütülmüştür. Deneye başlamadan önce yürüme öncesi sıçanın ön ayakları mavi arka ayakları kırmızı toksik olmayan boya ile boyanmıştır. Sıçanlara testten önce 3 saat boyunca stimülasyon verilmiştir. Ardından yürüme platformunun üzerindeki beyaz kağıtta sıçanlar yürütülmüştür.

Birbirini takip eden 3 ardışık adım değerlendirmeye alınmıştır. Değerlendirilen parametreler; ön ayak adım uzunluğu, ön ayak taban genişliği, arka ayak adım uzunluğu, arka ayak taban genişliğidir. Adım uzunluğu, hayvanın ayak izinden bir kumpas yardımı ile ardışık adımlardaki topuk-topuk mesafesi ölçülerek elde edilmiştir. Taban genişliği için ise 1.-5. parmak arası mesafe ölçülmüştür. Yürüme analizi esnasındaki deney görüntüleri Şekil 3-5a ve Şekil 3-5b’ de gösterilmiştir. Deney sırasında alınan örnek ayak izleri ise Şekil 3-6’ da gösterilmiştir.



Şekil 3.5 Yürüme Testi



Şekil 3.6 Yürüme Analizinden Elde Edilen Kayıtlar

3.3.1.3. Rotarod Testi

Rotarod testi sıçanların motor performans ve koordinasyonunu tespit etmek için kullanılmıştır. Hayvanlar 3 ardışık gün boyunca rotarod aletine (Ugo Basile, Biological Research Apparatus, Varese, Italy) alıştırılmıştır (Guerra ve ark., 1997). Her gün aynı saatte, deneye başlamadan 30 dakika önce, hayvanlar laboratuvara alınarak çevreyle ilişki kurmaları sağlanmış, 5 dakika arayla 2 ardışık ölçüm yapılmıştır. Hayvanlar bireysel bölmelerine, dönen çubuğun (7,3 cm çapta) tersi yönünde yerleştirildikten sonra çubuk üzerinde kalma süreleri tespit edilmiştir. Rotarod sistemi dönen çubuk üzerinde kalma süresini kaydetmekte ve hayvan düştüğü zaman bu süreyi göstermektedir. Kayıt alma süresi 300s olarak belirlenmiştir. Değişen hızlarda 5-40 rpm (dakikada dönme sayısı) ölçüm yapılarak rotarod performansı hızlanan çubuk üzerinde geçirilen toplam saniye cinsinden ifade edilmiştir (Lopez-Martin ve ark., 1998). Hayvanlarda meydana gelebilecek stres ve yorgunluğu azaltmak amacıyla farklı hızlar arasında 5 dakika dinlenme periyodu uygulanmıştır. Rotarod testi uygulaması Şekil 3-7’de gösterilmiştir.



Şekil 3.7 Rotarod Testi Uygulaması

3.4. Histolojik Analizler

3.4.1. Parafine Gömme İşlemi İçin Doku Takibi

Sıçanlardan alınan beyinler %10'luk formalin fiksatifine alınarak 24 saat fiksasyon edilmiştir. Fiksasyondan sonra dokular 2 saat akarsuda yıkanmıştır. Ardından, dokular sırasıyla %70, %80'lik alkollerde 48 saat, %90'lık etil alkolde 24 saat ve %100'lük etil alkolde ise 3 saat tutularak dokulardan suyun uzaklaşması sağlanmıştır. Ksilol içinde üç defa üçer dakika bekletilerek şeffaflaştırılmıştır. 56°C'ye ayarlanmış etüvde sıvı parafin serilerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlanmıştır.

3.4.2. İmmünohistokimyasal İşaretleme

Sıçanlarda, SN alanında TH, talamus ventrolateral bölümü, serebellum katmanları ve frontal korteks alanlarında ise c-fos ve BDNF proteinlerinin ekspresyonları immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. PPN bölgesi çok küçük olup araştırmacı tarafından uygun kesit alınamadığı için bu bölgede immünohistokimyasal işaretleme yapılamamıştır.

Kullanılan Solüsyonlar

- **1X PBS (Phosphate Buffer Saline) (0,2M):**

7,2 gr Disodyum Hidrojen Fosfat (Na_2HPO_4) (#1.06585.5000; Merck)

0,8 gr Potasyum Hidrojen Fosfat (KH_2PO_4) (#1.05101.1000; Merck)

16 gr Sodyum Klorür (NaCl) (#1.06400.1000; Merck)

Yukarıdaki kimyasallar 2 litre distile su içerisinde çözülmüş ve pH'sı 2N NaOH ile pH=7,4 olacak şekilde ayarlanmıştır.

- **Borik Asit Tamponu (0,3M):**

2,1 gr Borik asit (H_3BO_3) (#1.00162.5000; Merck) 900ml distile su içerisinde çözülmüş ve pH'sı 2N NaOH ile pH=7-7,4 olacak şekilde ayarlanmıştır.

- **%3'lük H_2O_2 Solüsyonu:**

92 ml metanol (CH_3OH) (#1.06009.2500; Merck) ve 8 ml %35'lik H_2O_2 (#1.07961.0100; Merck) karıştırılarak şale içerisinde hazırlanmıştır.

- **Bloklama Solüsyonu:** Ultra V Block (#TA-125-UB; Thermo Scientific/LabVision)

- **Antikor Dilüent Solüsyonu:** Antibody Diluent Solution (#ab64211; Abcam)

- **Primer Antikor:**

- **Sekonder Antikor:**

- **Streptavidin Peroksidaz Kompleksi:** Streptavidin Horseradish Peroxidase (HRP) (scytek)

- **Kromojen:** Diaminobenzidine tabletleri (#D4168; Sigma)

- **Mayer'in Hematoksileni:** Mayer Hematoksilen (#1.09249.1000; Merck)

- **Kapatma Solüsyonu:** Entellan (#1.07961.0100; Merck)

İmmünohistokimyasal analizler için; 5 µm kalınlığında kesitler süperfrost lamalar (Menzel Glaser J1800AMNZ) üzerine alınmıştır. Bu kesitler 56°C'lik etüvde gece boyu bekletilmiş ve ertesi gün yapılacak immünohistokimyasal analizler için hazırlanmıştır. İnkübasyon sonrasında kesitler 2 defa 10'ar dakika ksilol ve 5'er dakika azalan alkol serilerinde (%100, %90, %80, %70) bekletilerek deparafinize edilmiştir. Ardından, kesitler 5 dakika distile su içerisinde bekletilmiş ve takiben taze hazırlanmış sitrik asit (pH=6,0) (Merck 1-00244-1000) tamponunda 750W'da 5 dakika kaynatılarak, antijenik yapıların açılması sağlanmıştır. Kesitler mikrodalga uygulaması sonrasında oda ısısında 20 dakika

soğutulduktan sonra, PBS ile 3 kere 5'er dakika yıkanarak solüsyon kalıntıları uzaklaştırılmış ve özgül olmayan bağlanmaları bloke etmek için UV bloklama solüsyonu (Scytek AAA125) ile oda ısısında 7 dakika bloklanmıştır. Bu aşamada spesifik olmayan boyanmaların ortadan kalması sağlanmıştır. Bloklama solüsyonu uzaklaştırıldıktan sonra, yıkama yapılmadan örnekler üzerine anti-c-fos (Abcam #ab6167) 1/400 dilüsyonda, anti-BDNF (Abcam #ab46176) ve anti-TH (Santa Cruz #sc-25269) antikorları damlatılmıştır. Kesitlerden bir tanesine antikor ile eşit oranda Ig (immünoglobulin) içeren solüsyon damlatılarak negatif kontrolde sağlanmıştır. Kesitler nemli muhafaza kutularına alınarak +40C'de gece boyu inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda kesitlerdeki solüsyonlar uzaklaştırılmış ve 3 kere 5'er dakika PBS ile yıkanmıştır. Yıkama sonrasında kesitler, 1/400 oranında dilüe edilmiş biotin ile işaretlenmiş anti-tavşan (Vector #BA1000) sekonder antikoruna 1 saat oda ısısında inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra da 3 kere 5'er dakika PBS ile yıkanmış, streptavidin-peroksidaz (Invitrogen #85-9043) kompleksi ile 20 dakika oda ısısında inkübe edilmiştir. Tekrar yıkama basamakları sonrasında DAB (Diaminobenzidin) (Sigma #D4168) substratı damlatılarak enzim substrat ilişkisi sonucunda oluşacak olan kahverengi reaksiyonlar değerlendirilmiştir. Dokunun daha net görülebilmesi için Mayer'in hematoksilende (Biooptica #06002L) zıt boyama yapılarak; slaytlar artan alkol serilerinden (%70, %80, %90, %100) geçirilmiştir. Dehidratasyon sonrası ksilollerden geçirildikten sonra entellan (Merck #1-07960-0500) ile kapatılmıştır.

3.4.3. Image J Analizi

Her gruptan en az 6 fotoğraf çekildikten sonra Image J analizi ile boyanma şiddetleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sayısal değerler istatistiksel olarak anlamlandırılmış ve grafikler eklenmiştir.

3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

İstatistiksel değerlendirme için sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde sunulmuştur. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile kontrol edilmiştir. Normal dağılıma uygun olan veriler için gruplar arası karşılaştırmada one-way ANOVA, deney öncesi ve sonrası karşılaştırmada paired t testi, post-hoc değerlendirmede Tukey testi kullanılmıştır. Normal dağılıma uymayan verilerde ise gruplar arası karşılaştırmada

Kruskall-Wallis ve Mann-Whitney U, deney öncesi ve sonrası karşılaştırmada Wilcoxon Sum Rank testi kullanılmıştır.



4. BULGULAR

Çalışmada elde edilen bulgular lokomotor aktivite, yürüme analizi, rotarod testi ve histolojik analizler ana başlıkları altında ele alınmıştır. Deney gruplarındaki hayvanların genel görünüm ve sağlık açısından birbirleri arasında herhangi bir farklılık görülmemiştir.

4.1. Davranışsal Testler

Bu sonuçlar altında lokomotor aktivite, yürüme analizi ve rotarod testi sonuçları ele alınmıştır.

4.1.1. Locomotor aktivite testi sonuçları

Locomotor aktiviteyi değerlendirmek için; vertikal, horizontal, ambulator, toplam lokomotor aktivite ve toplam alınan mesafe olmak üzere beş parametre elde edilmektedir.

Vertikal aktivite: Parkinson modeli sıçanlarda sağlıklı sıçan grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede vertikal aktivitede azalma kaydedilmiştir ($p<0.01$). Parkinson modeli oluşturulup SNr'ye elektrod yerleştirilen ancak stimülasyon uygulanmayan sham stimülasyon grubunda da sağlıklı hayvan grubuna göre vertikal aktivitede istatistiksel azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). SNr DBS grubunda ise Parkinson modeli grubuna göre vertikal aktivitede artış kaydedilmiştir ($p<0.01$), (Şekil-4.1- A).

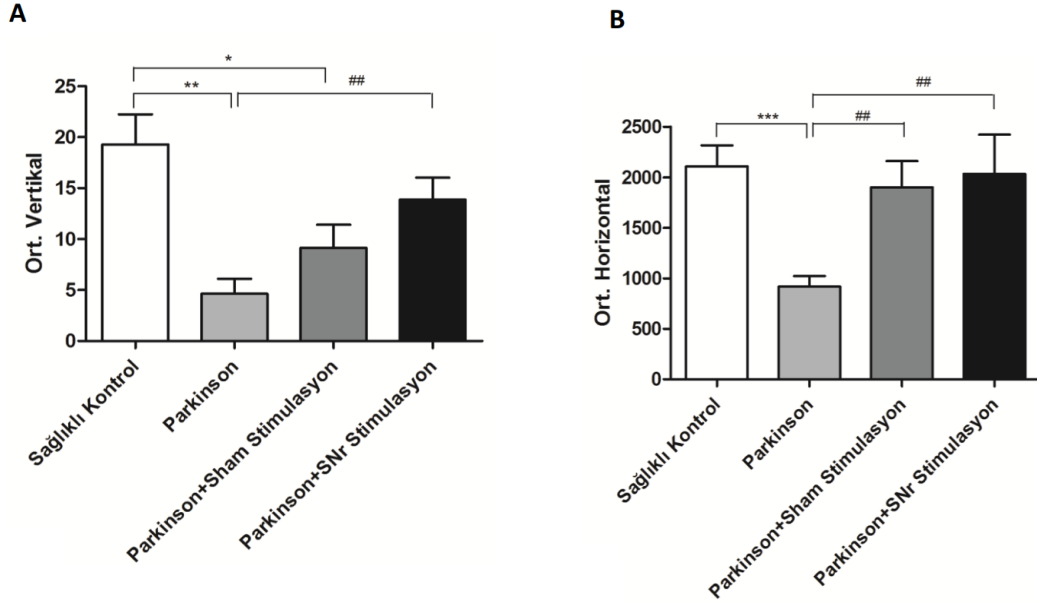
Horizontal aktivite: Parkinson modeli sıçanlarda sağlıklı sıçan grubuna göre horizontal aktivitede istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma kaydedilmiştir ($p<0.001$). Parkinson modeli oluşturulup SNr'ye elektrod yerleştirilen ancak stimülasyon uygulanmayan sham stimülasyon grubunda Parkinson modeli gruba göre horizontal aktivitede istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenirken ($p<0.01$), SNr DBS grubunda ise horizontal aktivite artışının daha fazla olduğu izlenmiştir ($p<0.01$), (Şekil-4.1- B).

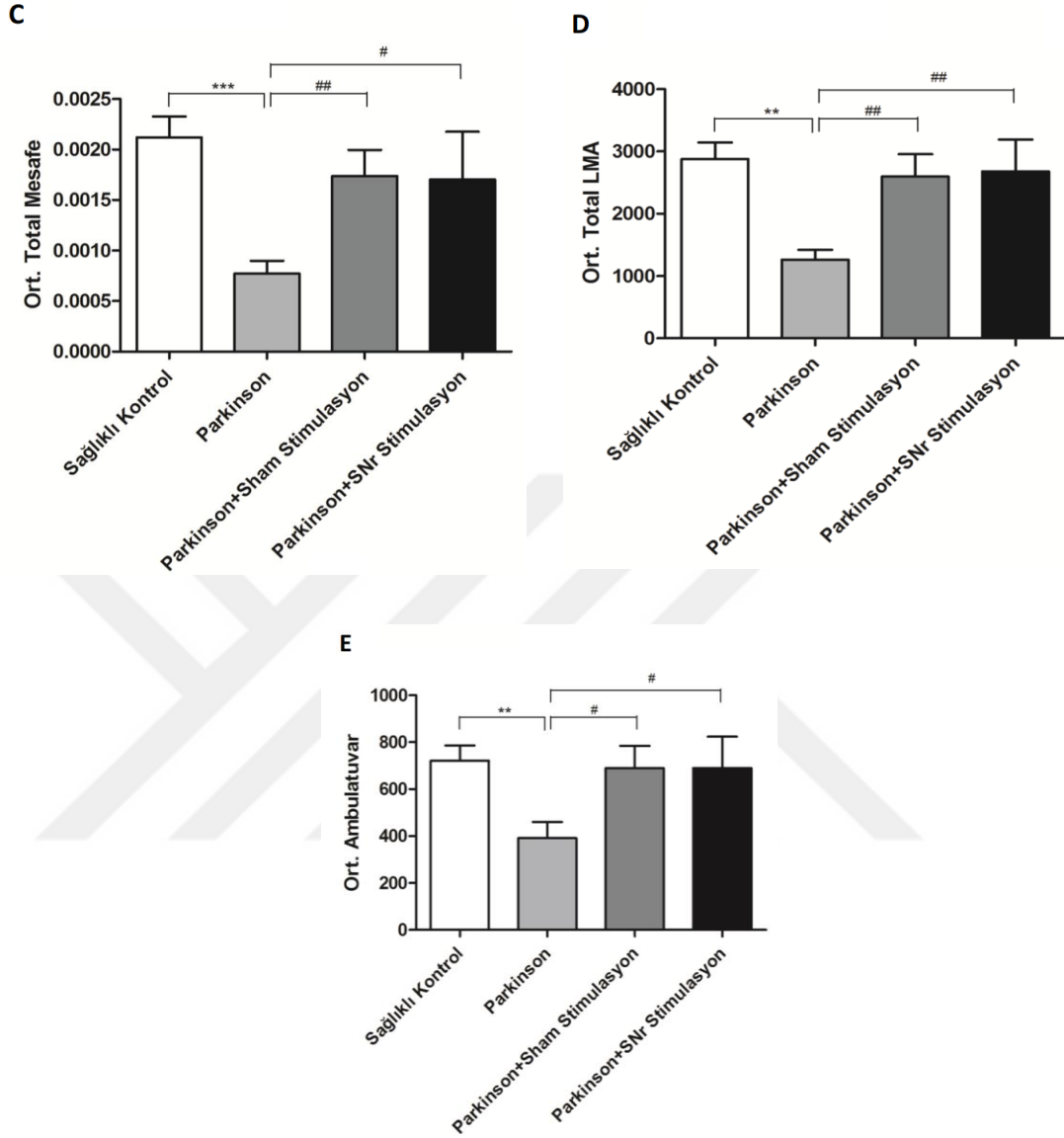
Toplam mesafe: Parkinson modeli sıçanlarda sağlıklı sıçan grubuna göre toplam alınan mesafede istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma kaydedilmiştir ($p<0.001$). Parkinson modeli oluşturulup SNr'ye elektrod yerleştirilen ancak stimülasyon uygulanmayan sham stimülasyon grubunda Parkinson modeli gruba göre toplam alınan mesafede istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenirken ($p<0.01$), SNr DBS grubunda yine

toplam alınan mesafede istatistiksel olarak anlamlı artış kaydedilmiştir ($p<0.05$), (Şekil-4.1- C).

Toplam lokomotor aktivite: Parkinson modeli sıçanlarda sağlıklı sıçan grubuna göre toplam lokomotor aktivitede istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma kaydedilmiştir ($p<0.01$). Parkinson modeli oluşturulup SNr'ye elektrod yerleştirilen ancak stimülasyon uygulanmayan sham stimülasyon grubunda Parkinson modeli gruba göre toplam lokomotor aktivitede istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenirken ($p<0.01$), SNr DBS grubunda lokomotor aktivitede de artış kaydedilmiştir ($p<0.01$), (Şekil-4.1-D).

Ambulatuvar aktivite: Parkinson modeli sıçanlarda sağlıklı sıçan grubuna göre ambulatuvar aktivitede istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma kaydedilmiştir ($p<0.01$). Parkinson modeli oluşturulup SNr'ye elektrod yerleştirilen ancak stimülasyon uygulanmayan sham stimülasyon grubunda Parkinson modeli gruba göre ambulatuvar aktivitede istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenirken ($p<0.01$), SNr DBS grubunda da ambulatuvar aktivitede artış kaydedilmiştir ($p<0.01$).





Şekil 4.1 (A-E): Lokomotor aktivite testi sonuçları

A: Ortalama vertikal aktivite, B: Ortalama horizontal aktivite, C: Toplam mesafe, D: Toplam lokomotor aktivite, E: Ortalama ambulatuvar aktivite (*, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$; #, $p<0.05$; ##, $p<0.01$; ###, $p<0.001$)

4.1.2. Yürüme Analizi Sonuçları

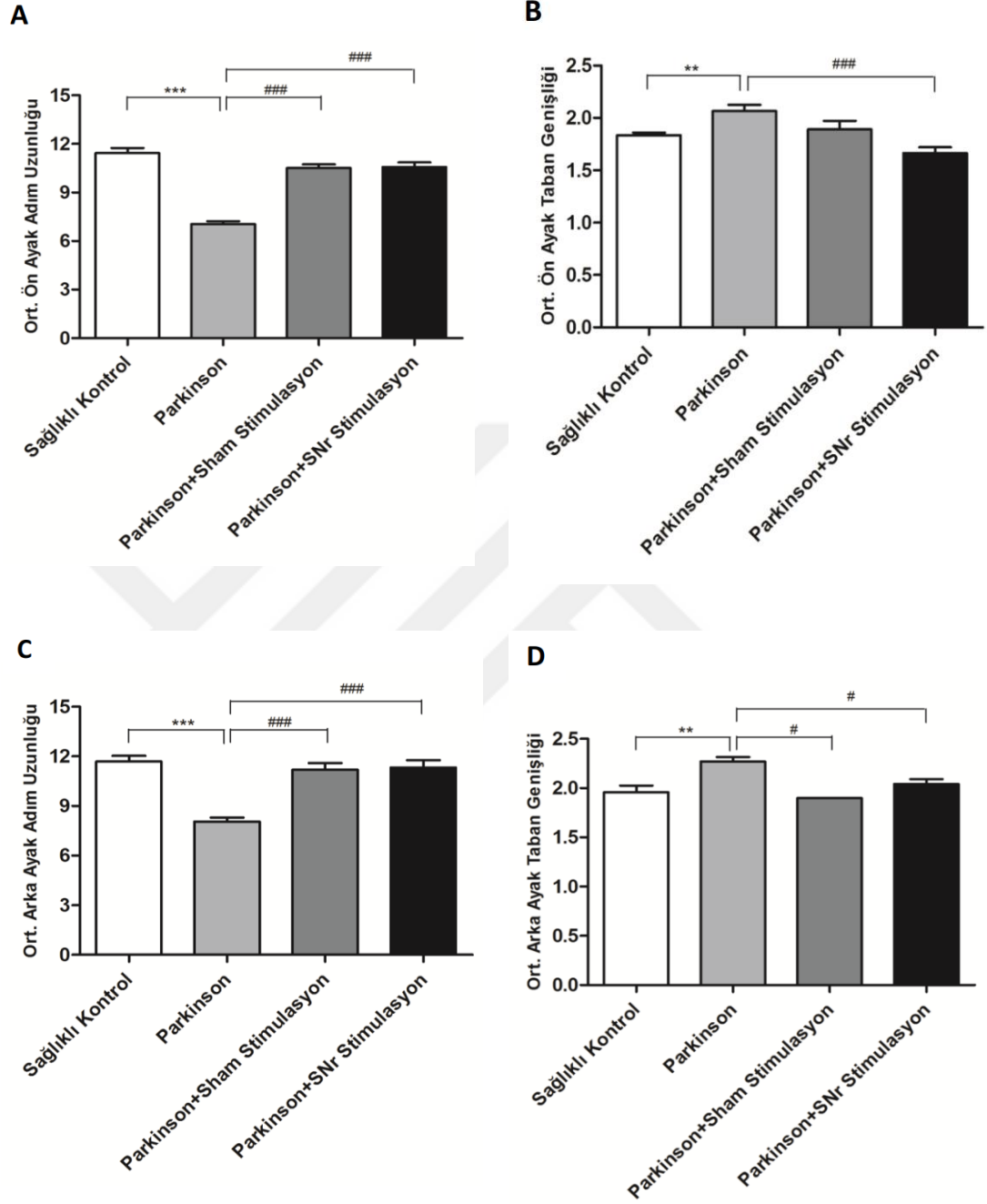
Hayvanların yürüme hızı ve taban genişliğini değerlendirmek amacıyla ayak izi metodu kullanılmıştır. Ayak izi metodunda ön ayak adım uzunluğu, ön ayak taban genişliği, arka ayak adım uzunluğu, arka ayak taban genişliği parametreleri ölçülmüştür.

Ön ayak adım uzunluğu: Parkinson modeli hayvan grubunda ön ayak adım uzunluğunda sağlıklı hayvan grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma kaydedilmiştir ($p<0.001$). Parkinson modeli oluşturulup SNr'ye elektrod yerleştirilen ancak stimülasyon uygulanmayan sham stimülasyon grubunda Parkinson modeli gruba göre ön ayak adım uzunluğunda istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir ($p<0.001$). SNr DBS grubu hayvanlarda da Parkinson modeli oluşturulan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış kaydedilmiştir ($p<0.001$), (Şekil 4-2-A).

Ön ayak taban genişliği: Parkinson modeli hayvan grubunda ön ayak taban genişliğinde sağlıklı hayvan grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış kaydedilmiştir ($p<0.01$). SNr DBS grubu hayvanlarda Parkinson modeli oluşturulan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma kaydedilmiştir ($p<0.001$), (Şekil 4-2-B).

Arka ayak adım uzunluğu: Parkinson modeli hayvan grubunda arka ayak adım uzunluğunda sağlıklı hayvan grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma kaydedilmiştir ($p<0.001$). Parkinson modeli oluşturulup SNr'ye elektrod yerleştirilen ancak stimülasyon uygulanmayan sham stimülasyon grubunda ise Parkinson modeli gruba göre arka ayak adım uzunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.001$). SNr DBS grubu hayvanlarda da Parkinson modeli oluşturulan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış kaydedilmiştir ($p<0.001$), (Şekil 4-2-C).

Arka ayak taban genişliği: Parkinson modeli hayvan grubunda arka ayak taban genişliğinde sağlıklı hayvan grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış kaydedilmiştir ($p<0.01$). Parkinson modeli oluşturulup SNr'ye elektrod yerleştirilen ancak stimülasyon uygulanmayan sham stimülasyon grubunda Parkinson modeli gruba göre arka ayak taban genişliğinde azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). SNr DBS grubu hayvanlarda da Parkinson modeli oluşturulan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı azalma kaydedilmiştir ($p<0.05$), (Şekil 4-2-D).



Şekil 4.2 (A-D) Ayak İzi Ölçüm Sonuçları

A: Ön Ayak Uzunluğu, B: Ön Ayak Taban Genişliği, C: Arka Ayak Uzunluğu, D: Arka Ayak Taban Genişliği (Grafiğin tamamındaki y eksenini büyüklüklerin birimi cm'dir.) (*, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$; #, $p<0.05$; ##, $p<0.01$; ###, $p<0.001$)

4.1.3. Rotarod Testi Sonuçları

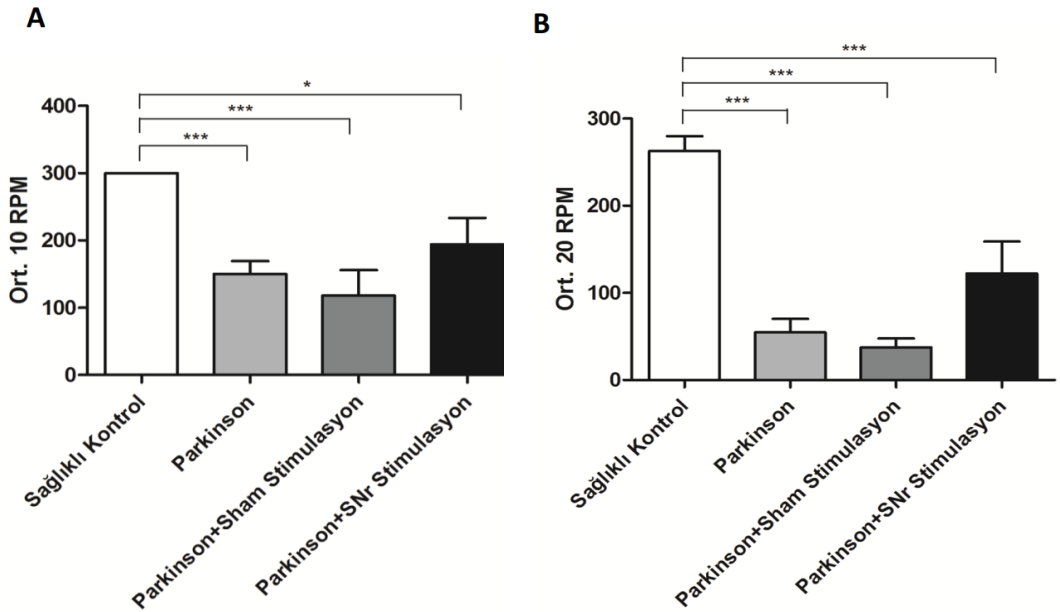
Motor koordinasyon ve dengenin göstergesi olan rotarod testi 5, 10, 20, 30, 40 rpm hızları ile rotarod cihazı üzerinde kalış süreleri ölçülerek yapılmıştır.

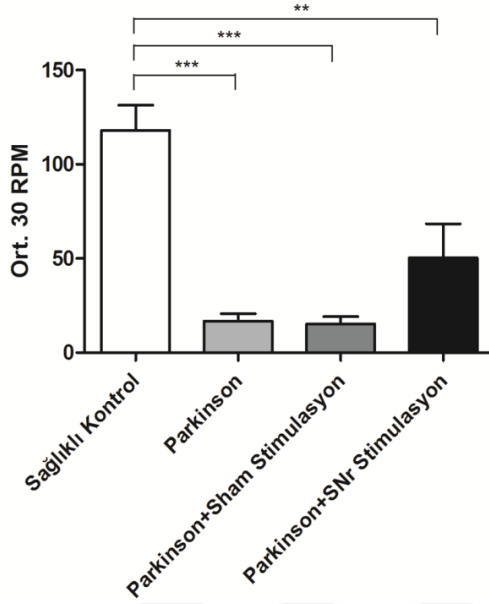
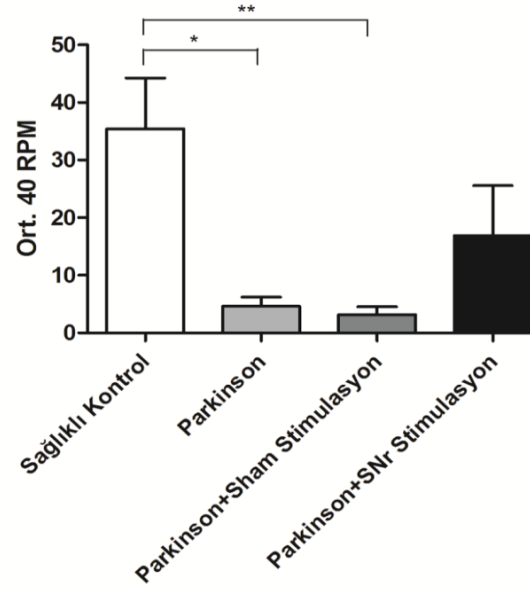
Sonuçları değerlendirdiğimizde; 5 rpm düzeylerinde rotarod mili üzerinden düşme süreleri bakımından gruplar arasında fark görülmemiştir. 10, 20, 30, 40 rpm hızında deneysel Parkinson grubu hayvanların rotarod mili üzerinde kalış sürelerinin sağlıklı hayvan grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı gözlenmiştir (10,20,30 rpm için $p<0.001$, 40 rpm için $p<0.05$).

Deneysel Parkinson modeli oluşturulduktan sonra SNr bölgesine elektrod yerleştirilen ancak stimülasyon uygulanmayan hayvan grubunda yine deneysel Parkinson modeli hayvan grubuna benzer şekilde rotarod milinde kalış süresinde kısalma kaydedilmiştir.

Deneysel Parkinson modeli sonrası SNr DBS uygulanan hayvan grubunda ise; 10, 20, 30, 40 rpm hızında deneysel Parkinson modeli hayvan grubuna oranla rotarod milinde kalış süresinde artma kaydedilse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4-3 A-D).

Sonuç olarak; Parkinson modeli hayvanlara SNr DBS uygulanmasının; rotarod mili üzerinde kalış süresini uzattığı gözlenirse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.



C**D**

Şekil 4.3 (A-D) 10-20-30-40 rpm hızlarında rotarod sonuçları

A: 10 rpm, B: 20 rpm, C: 30 rpm, D: 40 rpm (*, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$)

4.2. İmmünohistokimyasal Analizler

İmmünohistokimyasal analizler SN alanında TH immünohistokimyası, serebellumdaki immünohistokimyasal analizler, frontal kortekste immünohistokimyasal analizler, talamusda immünohistokimyasal analizler başlıkları altında ele alınmıştır.

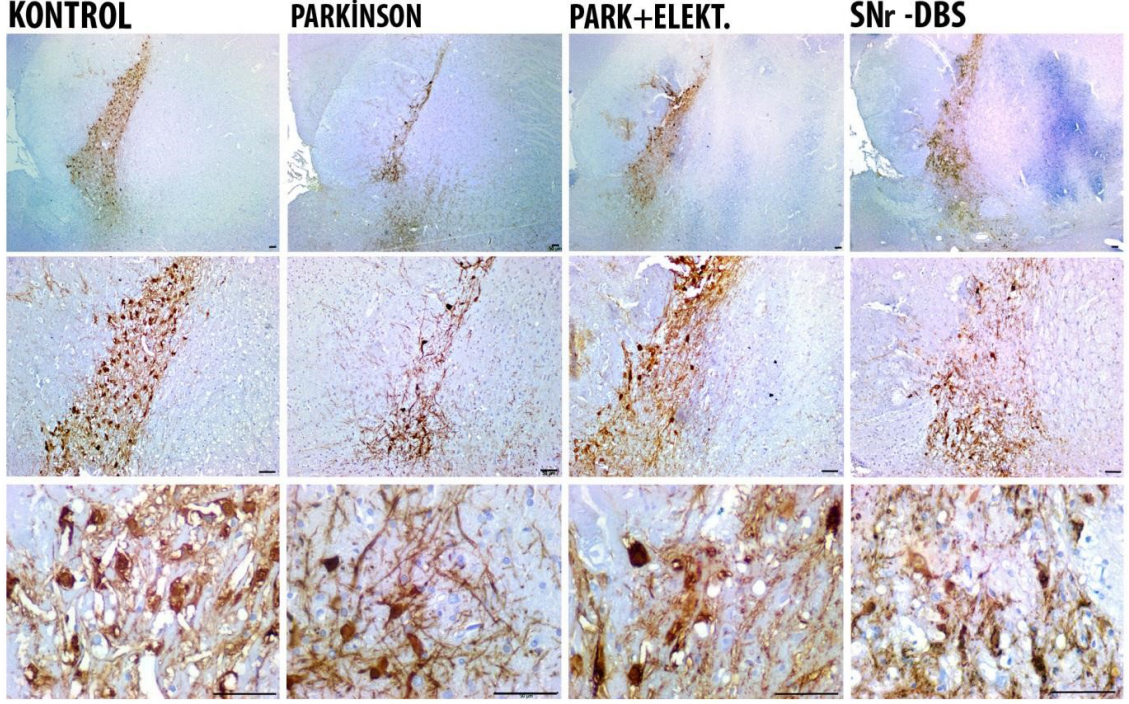
4.2.1. SNc alanında TH immünohistokimyası

Kontrol grubuna ait kesitlerde TH immünohistokimyasıyla belirlenen dopaminerjik nöron sayısının, 6-OHDA ile deneysel olarak Parkinson oluşturulan gruplarda anlamlı olarak azaldığı dikkati çekmektedir. Parkinson+Elektrod uygulanan gruplarda da Parkinson gruplarına benzer bir ekspresyon şiddetinin olduğu görülmüştür. Bunun yanında, SNr bölgesine DBS uygulanan gruplarda ise, immünreaksiyonun belirgin olarak arttığı dikkat çekmektedir (Şekil 4-4).

Çalışmada her grupta yer alan 6 hayvanın aynı alanlarından elde edilen en az 6 fotoğrafta değerlendirilmiştir. Buna göre yapılan Image J analizleri sonrasında elde edilen boyanma

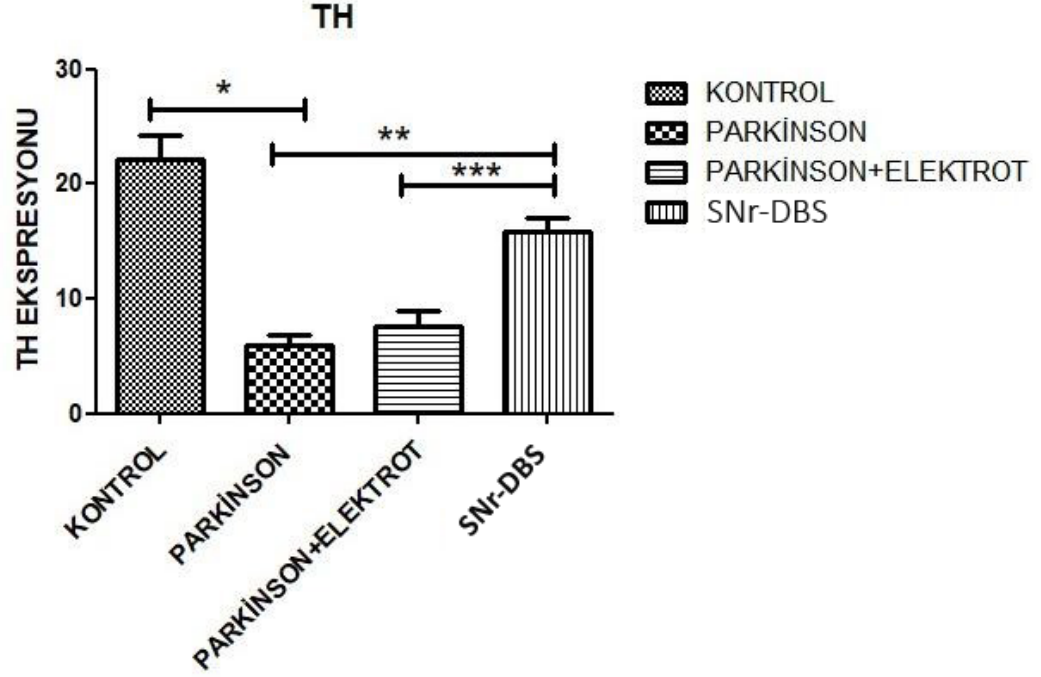
şiddetleri grafik haline getirilmiş ve gruplar arasındaki farklar anlamlılık açısından değerlendirilmiştir (Şekil 4-5).

TH İmmünohistokimyası



Şekil 4.4 TH immünohistokimya sonuçları

TH immünohistokimyasıyla gruplar arasında dopaminerjik nöronlardaki ekspresyon şiddeti görülmektedir. Resimler 4x, 10x ve 40x objektif büyötmeleri kullanarak çekilmiş olup özellikle nöron sayısına dikkati çekmek üzere dizayn edilmiştir. Kontrol gruplarında gözlenen yoğun TH immünreaksiyonunun, Parkinson ve Park+Elektrod uygulanan gruplarda nöron sayısının azalmasına bağılı olarak düştüğü görölmektedir. Buna karşın SN+DBS gruplarında daha yoğun gözlenen TH immünreaksiyonu bu alanda nöron sayısının arttığı görölmüştür. Skala bar 50 μm 'dir.



Şekil 4.5 TH İmmünohistokimya Gruplar Arası Ekspresyon Farklılıkları

Gruplar arasındaki ekspresyon farklarının Image J analizi ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen grafiklerdir. Kontrol ve Parkinson grubu arasında, Parkinson ile Parkinson+Elektrod ve SNr-DBS grupları arasında anlamlı farklar elde edildi. (*/**/*** p <0,005)

4.2.2. Serebellumdaki İmmünohistokimyasal Analizler

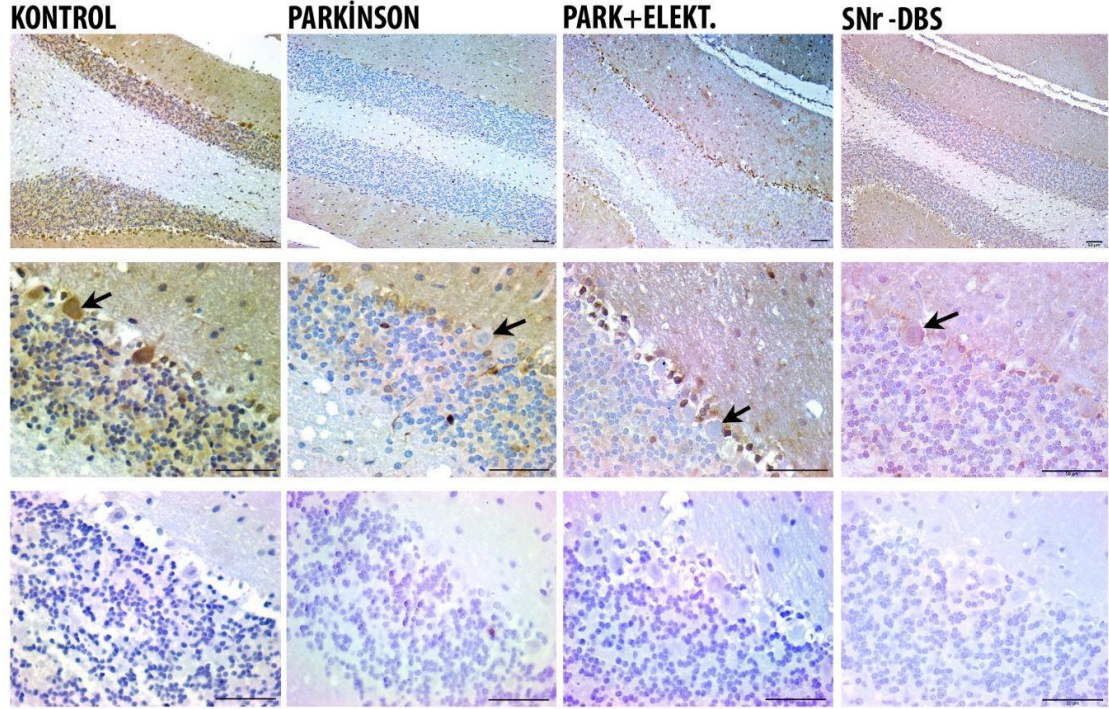
4.2.2.1. c-fos İmmünohistokimyası

c-fos immünohistokimyasal analizleri; yüksek frekanslı derin beyin stimülasyonu sonrası prefrontal korteks, derin serebellar nukleuslarda aktive olabilecek nöronları tanımlamak için kullanılmıştır.

c-fos; özellikle beyin haritalanması için kullanılan bir belirteç olduğundan ekspresyon düzeyindeki değişimler, aktive olan nöronları belirlemek için önemlidir.

4.2.2.2. Serebellumda c-fos İmmünohistokimyası

Serebellumun tabakalarındaki ekspresyonda c-fos immünreaksiyonu gruplar arasında farklıdır. Kontrol hayvanlarında her tabakada aktif olarak gözlenen; c-fos immünreaksiyonunun DBS uygulanan hayvanlarda da benzer bir profil sergilediği görülmektedir. Buna karşın Parkinson gruplarında tabakalardaki zayıf ekspresyon dikkati çekmektedir. Özellikle Purkinje hücrelerinin Parkinson gruplarında c-fos ekspresyonunu hiç içermemesi de önemli bir bulgudur. Benzer şekilde Park+Elektrod uygulanan hayvanlarda da Purkinje hücrelerinde ekspresyon görülmemektedir. Bu durum SNr alanına uygulanan DBS'in deaktive olmuş c-fos ekspresyonunu yeniden aktive ettiğini göstermektedir (Şekil 4-6).

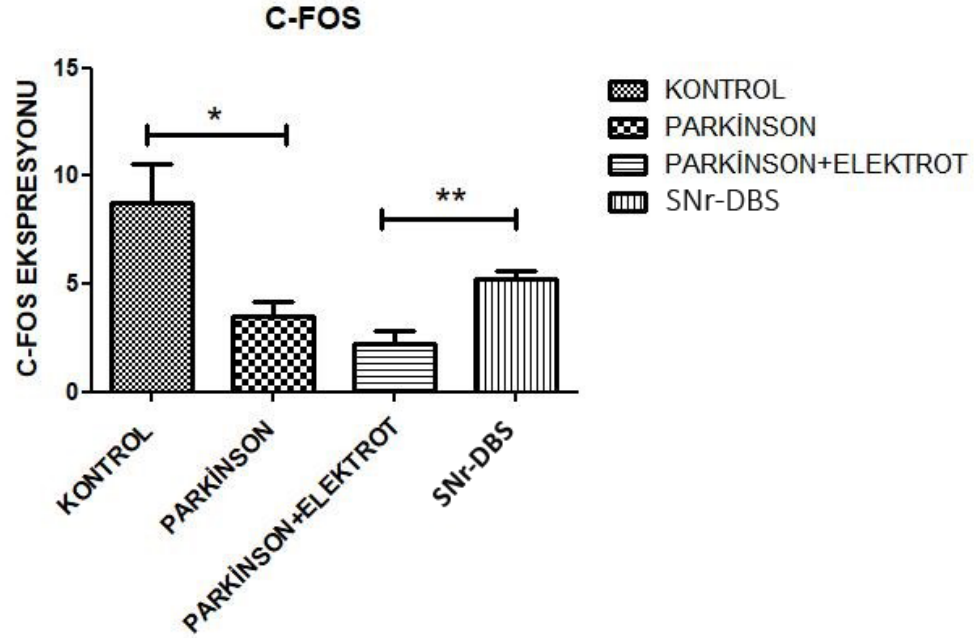


Şekil 4.6 Serebellum c-fos immünohistokimya sonuçları

c-fos immünohistokimya sıyyla gruplar arasında ekspresyon şiddeti görülmektedir. Kontrol gruplarında yoğun ekspresyon profilinin Parkinson gruplarında bariz düştüğü hatta Purkinje hücrelerinin hiç eksprese etmediği görülmektedir (ok). Aynı zamanda bu grupta Purkinje hücrelerinin yakınında yer alan Sepet hücrelerinde reaksiyonun varlığı dikkati çekmektedir. Parkinson+Elektrod gruplarında purkinje hücrelerinin kontrollerdekinden

daha az bir boyanmaya sahip olduğu ancak Purkinje hücrelerinin etrafındaki sepet hücrelerinde reaksiyonun arttığı görülmektedir. SNr-DBS gruplarında Purkinje hücrelerindeki yoğun ekspresyon dikkati çekmektedir. Ayrıca bu grupta Sepet hücrelerindeki artan reaksiyonun da tıpkı kontrollerde olduğu gibi düştüğü görülmektedir. En alt satır aynı alanın negatif kontrollerini göstermektedir. Skala bar 50 μm 'dir.

Bu bulgular 6 farklı hayvanın serebellumunun farklı bölgelerinden alınan 6 fotoğrafın Image-J analizi ile değerlendirilmesi sonucunda grafiğe yansıtılmıştır. Gruplar arasındaki ekspresyon farkları istatistiksel olarak değerlendirilerek; Kontrol ile Parkinson arasında ve Parkinson+Elektrod ile SNr-DBS arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Şekil 4-7).

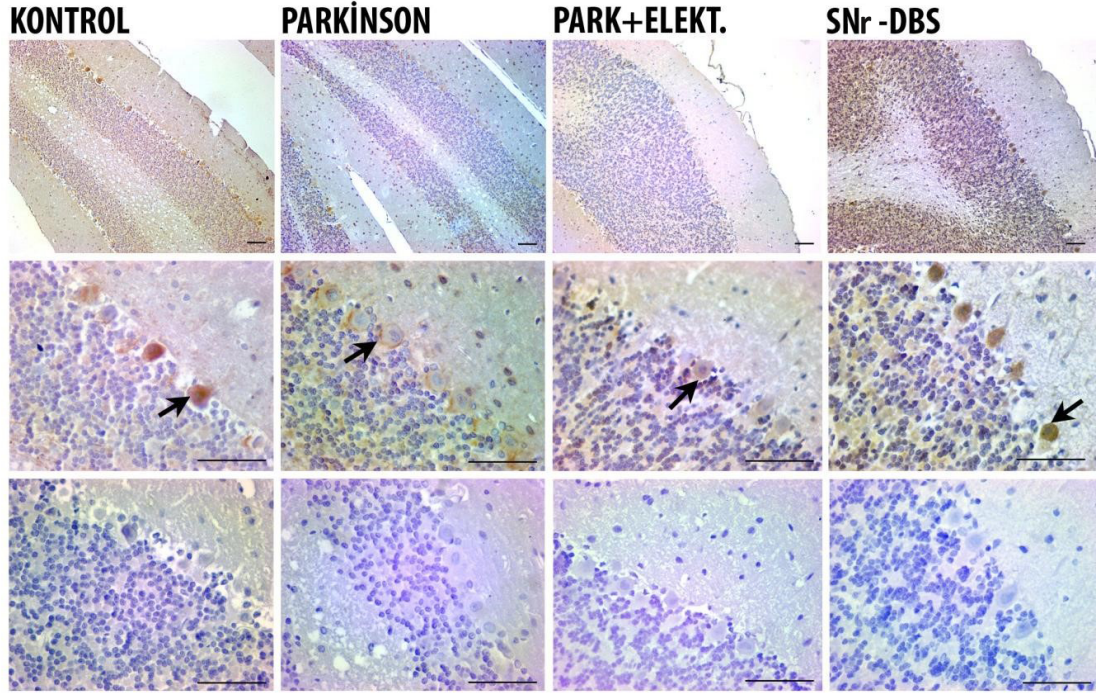


Şekil 4.7 Serebellum c-fos Gruplar arasındaki ekspresyon farkları

Gruplar arasındaki ekspresyon farkları nın Image J analizi ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen grafiklerdir. Kontrol ve Parkinson grubu arasında, Parkinson+Elektrod ve SNr-DBS grupları arasındaki ekspresyon istatistiksel olarak anlamlıdır. (*/** p <0,005)

4.2.2.3. Serebellumda BDNF İmmünohistokimyası

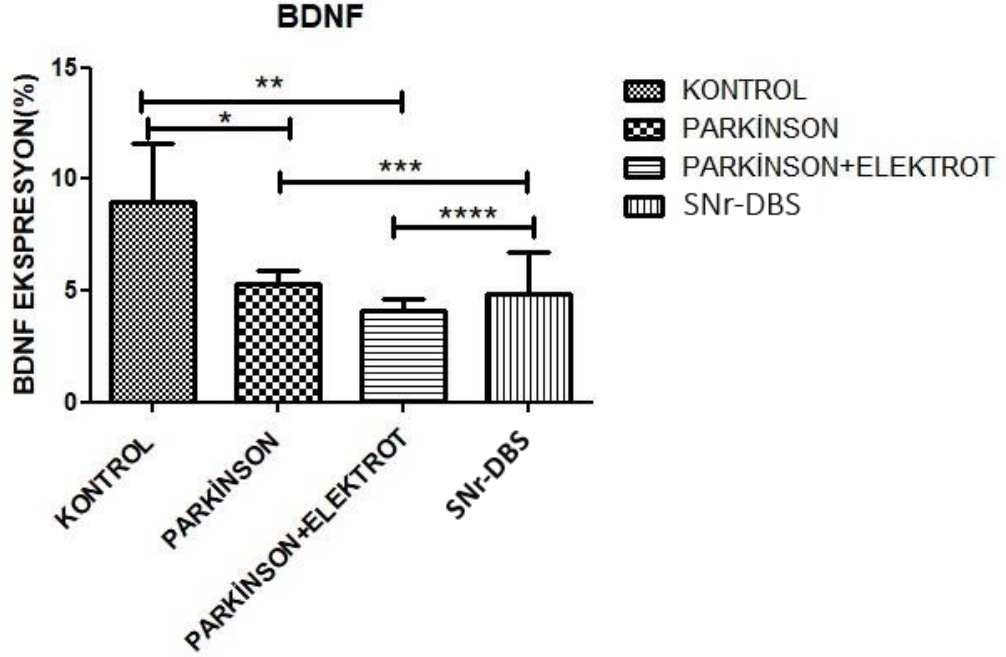
Bu bilgiler ışığında, kontrol ve DBS hayvanlarının serebellumlarında her tabakada ekspresyon yoğun olarak görülürken; Parkinson gruplarında ekspresyonun tamamen kaybolduğu görülmüştür. Buna karşın, Park+Elektrod uygulanan gruplarda ekspresyonun Parkinson gruplarına kıyasla biraz daha iyi olması da önemli bir sonuçtur. Bu durumda, 6- OHDA'nın yarattığı kimyasal hasara yanıt olarak BDNF ekspresyonunun kaybolduğu görülmektedir (Şekil 4-8). Modelin hasarını göstermek için iyi bir ajan olduğu söylenebilir. Boyanma paternleri Image J analizi ile doğrulanıp sonuçlar istatistiksel olarak anlamlandırılarak grafiklere yansıtılmıştır (Şekil 4-9).



Şekil 4.8 Serebellum BDNF immünohistokimya sonuçları

BDNF immünohistokimya sıyyla gruplar arasında ekspresyon şiddeti görülmektedir. Kontrol gruplarında yoğun ekspresyon profilinin Parkinson gruplarında bariz düştüğü hatta Purkinje hücrelerinin sadece membranlarında ekspre ettiği görülmektedir (ok). Parkinson+Elektrod gruplarında da purkinje hücrelerinin kontrollerdekinden daha az bir boyanmaya sahip olduğu görülmektedir. SNr-DBS gruplarında Purkinje hücrelerindeki

yoğun ekspresyon görülmektedir. En alt satır aynı alanın negatif kontrollerini göstermektedir. Skala bar 50 μm 'dir.



Şekil 4.9 Serebellum BDNF Gruplar arasındaki ekspresyon farkları

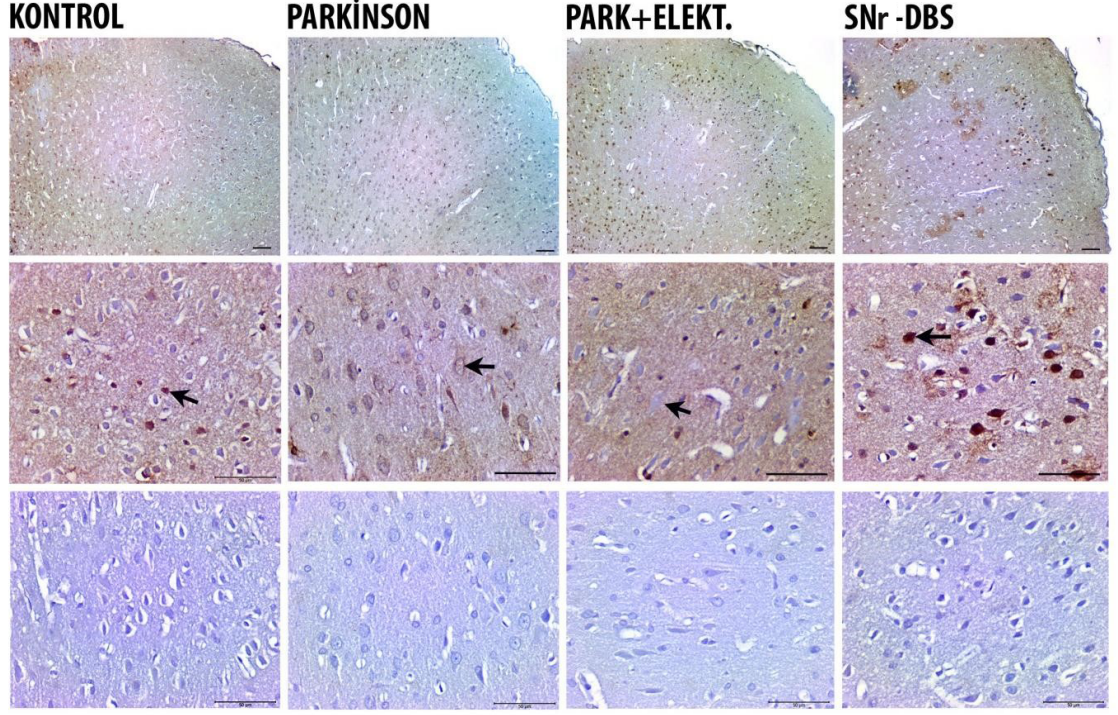
Gruplar arasındaki ekspresyon farklarının Image J analizi ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen grafiklerdir. Kontrol ve Parkinson grubu arasında, kontrol ile Parkinson+Elektrod arasında; Parkinson ile SNrDBS ve Parkinson+Elektrod ile SNr-DBS grupları arasındaki ekspresyon istatistiksel olarak anlamlıdır. (*/**/**** p < 0,005)

4.2.3. Frontal Kortekste İmmünohistokimyasal Analizler

4.2.3.1. c-fos İmmünohistokimyası

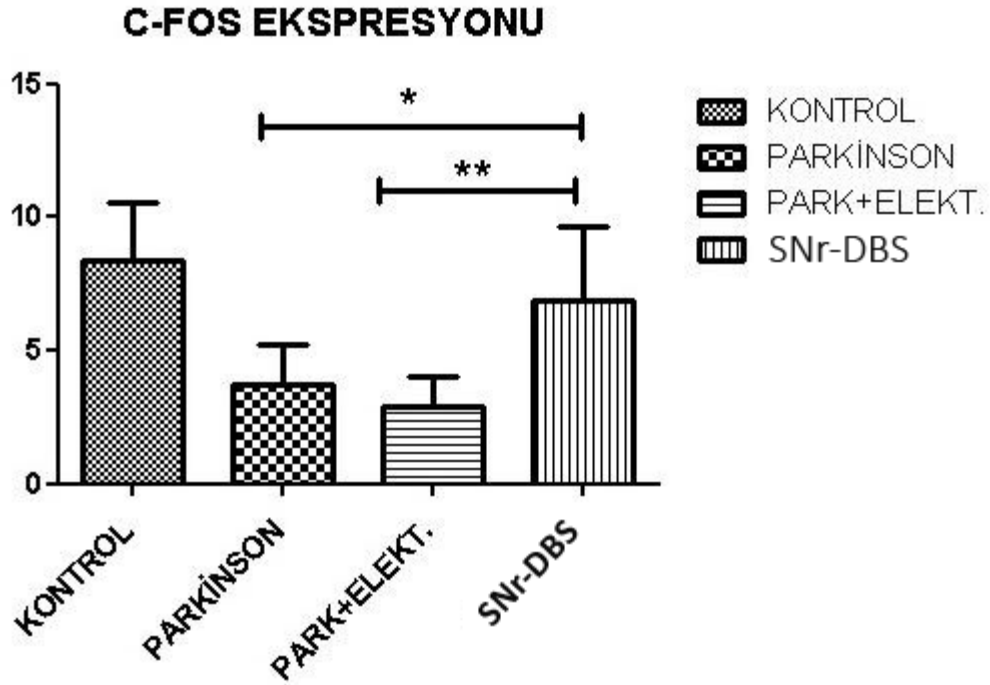
Frontal motor korteks alanlarında M1 ve M2 bölgeleri değerlendirilmiştir. Kontrol hayvanların kortekslerinde gözlenen yoğun c-fos immün reaktivitesinin, deneysel olarak Parkinson modeli oluşturulmuş gruplarda dikkate değer derecede düştüğü görülmüştür. Buna karşın elektrot uygulamasında bu reaksiyonun nadir de olsa gözlenmeye başlamasına karşın, SNr-DBS uygulamasında ise belirgin derecede arttığı dikkati çekmiştir. Bu durum DBS uygulamasının M1/M2 prefrontal kortikal alanlarda ekspresyonu normale döndürdüğünü göstermektedir (Şekil 4-10). Tüm gruplara ait

hayvanlarda yapılan immün boyanmaların image-J analizi ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen grafiklerde de aynı bulgular görülmektedir (Şekil 4-11).



Şekil 4.10 Frontal Korteks c-fos immünohistokimyası sonuçları

c-fos immünohistokimyasıyla gruplar arasında ekspresyon şiddeti görülmektedir. Kontrol gruplarında yoğun ekspresyon profilinin Parkinson gruplarında bariz düştüğü buna karşın; SNr DBS gruplarında yeniden arttığı görülmektedir. En alt satır aynı alanın negatif kontrollerini göstermektedir. Skala bar 50 μm 'dir.

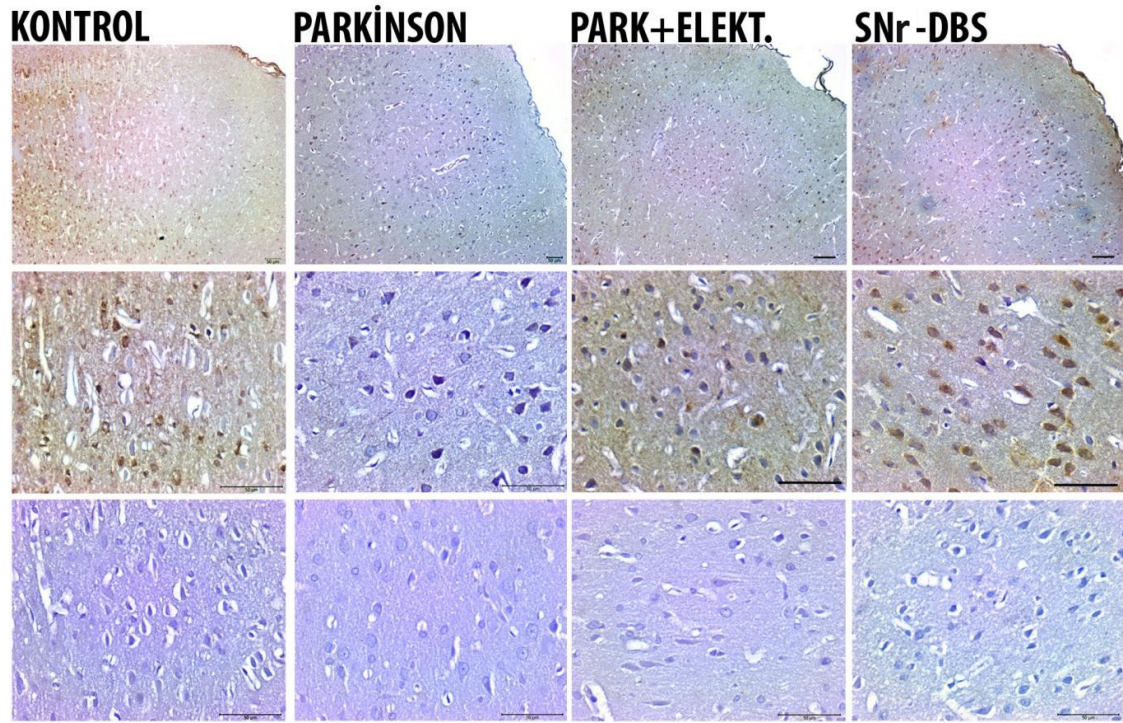


Şekil 4.11 Frontal Korteks c-fos Gruplar arasındaki ekspresyon farkları

Gruplar arasındaki ekspresyon farklarının Image J analizi ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen grafiklerdir. Parkinson ile SNr-DBS grubu arasında, Parkinson+Elektrod ve SNr-DBS grupları arasındaki ekspresyon farkı istatistiksel olarak anlamlıdır. (*/** $p < 0,005$)

4.2.3.2. BDNF İmmünohistokimyası

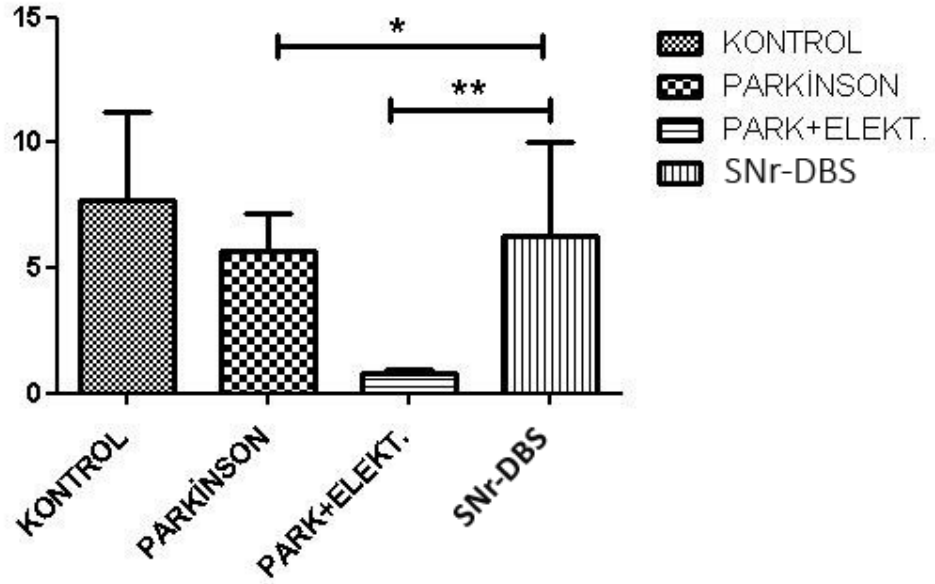
BDNF immünohistokimyasıyla elde edilen verilerin c-fos ile benzer olduğu; Kontrol hayvanlarında gözlenen ekspresyonun Parkinson gruplarında kaybolmasına rağmen, DBS gruplarında yeniden belirdiği görülmüştür. Bu durum DBS uygulamasının nöronları koruduğunun bir göstergesi olabilir (Şekil 4-12). Tüm gruplara ait hayvanlarda yapılan immün boyanmaların image-J analizi ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen grafiklerde de aynı bulgular görülmektedir (Şekil 4-13)



Şekil 4.12 Frontal Korteks BDNF immünohistokimya sonuçları

BDNF immünohistokimyası sonucunda gruplar arasında ekspresyon farkları görülmektedir. Kontrol gruplarında gözlenen yoğun ekspresyon profilinin Parkinson gruplarında kaybolduğu dikkati çekmiştir. Buna karşın; SNr-DBS gruplarında da yeniden arttığı görülmüştür. En alt satır aynı alanın negatif kontrollerini göstermektedir. Skala bar 50 μm 'dir.

BDNF EKSPRESYONU



Şekil 4.13 Frontal Korteks Gruplar arasındaki ekspresyon farkları

Gruplar arasındaki ekspresyon farklarının Image J analizi ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen grafiklerdir. Parkinson ile SNr-DBS grubu arasında, Parkinson+Elektrod ve SNr-DBS grupları arasındaki ekspresyon istatistiksel olarak anlamlıdır. (*/** p <0,005)

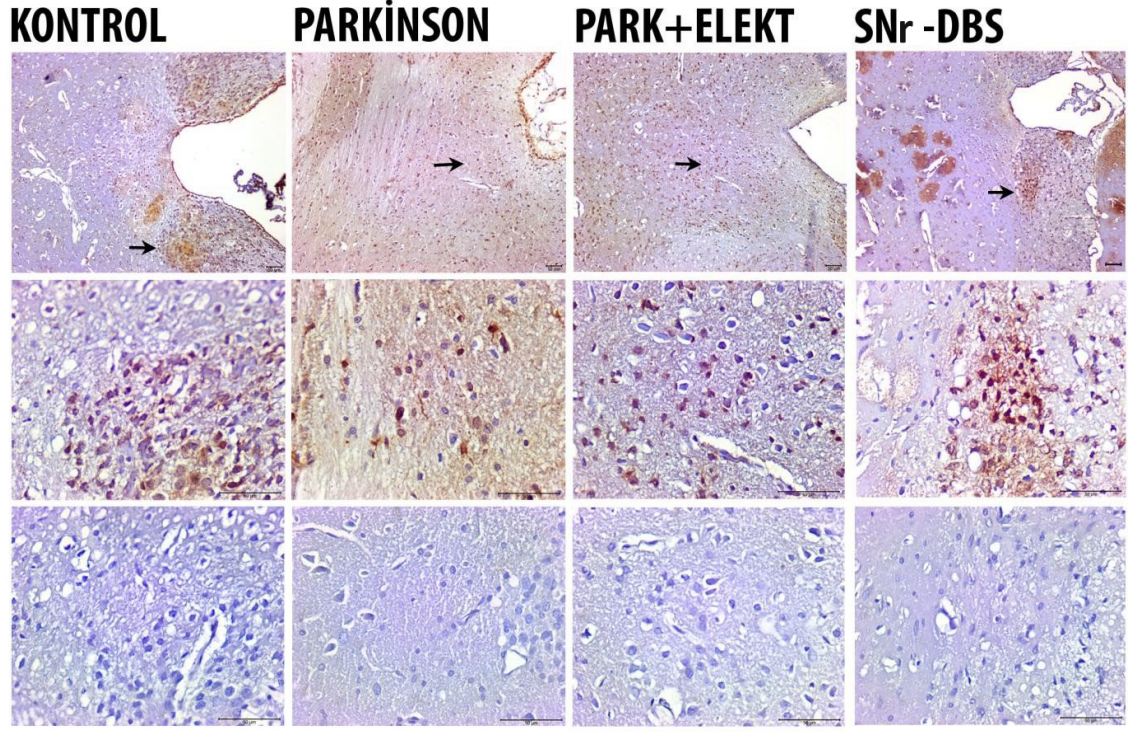
4.2.4. Talamusda İmmünohistokimyasal Analizler

4.2.4.1. c-fos İmmünohistokimyası

Talamusdaki çekirdekleri değerlendirecek şekilde yapılan c-fos immünreaksiyonlarının kontrol gruplarında yoğun olduğu ancak buna karşın Parkinson oluşturulmuş hayvanların talamik çekirdeklerinde ekspresyonun düştüğü görülmüştür. Liflerde bir boyanma görünmesine rağmen nükleer boyanmanın oldukça azalması dikkat çekiciydi. Parkinson+Elektrod gruplarında elektrodun bir etki mekanizmasına sahip olduğu, Parkinson gruplarına kıyasla belirgin bir nükleer reaksiyonun varlığı dikkat çekiciydi. SNr-DBS gruplarında bu reaksiyonun kontrol grubu hayvanlarınkine çok benzer olduğu görülmüştür (Şekil 4-14). Tüm gruplara ait hayvanlarda yapılan immün boyanmaların image-J analizi ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen grafikler de

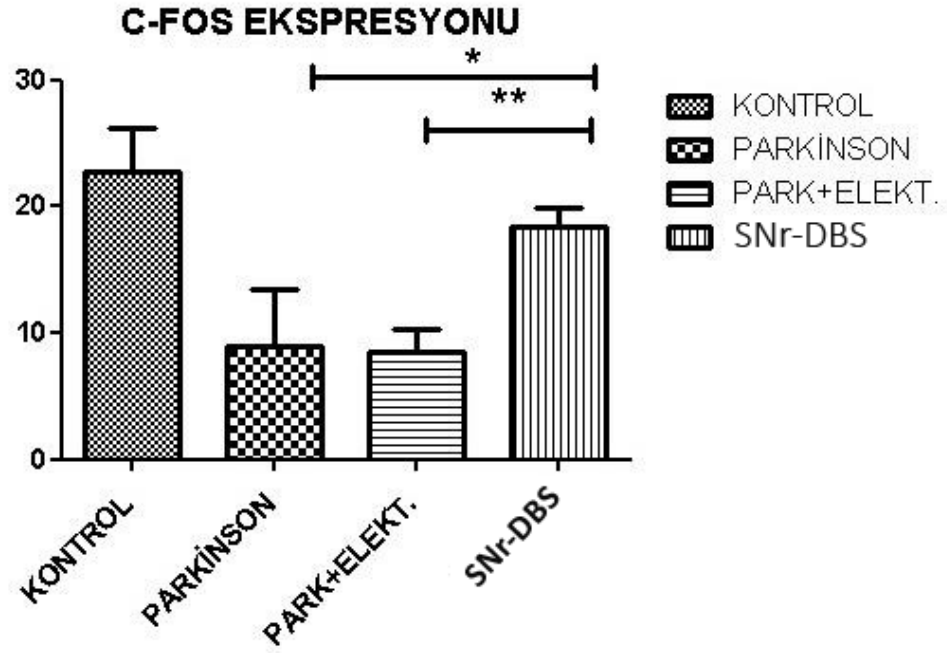
immünohistokimyasal boyanmaların ekspresyonel değişimi net olarak görülmektedir (Şekil 4-15).

c FOS İmmunohistokimyası



Şekil 4.14 Talamus c-fos immünohistokimya sonuçları

c-fos immünohistokimyası sonucunda gruplar arasında talamus alanında ekspresyon farkları görülmektedir. Kontrol gruplarında gözlenen yoğun ekspresyon profilinin Parkinson gruplarında kaybolduğu ve buna karşın; SNr-DBS gruplarında da yeniden arttığı görülmüştür. En alt satır aynı alanın negatif kontrollerini göstermektedir. Skala bar 50 μm 'dir.



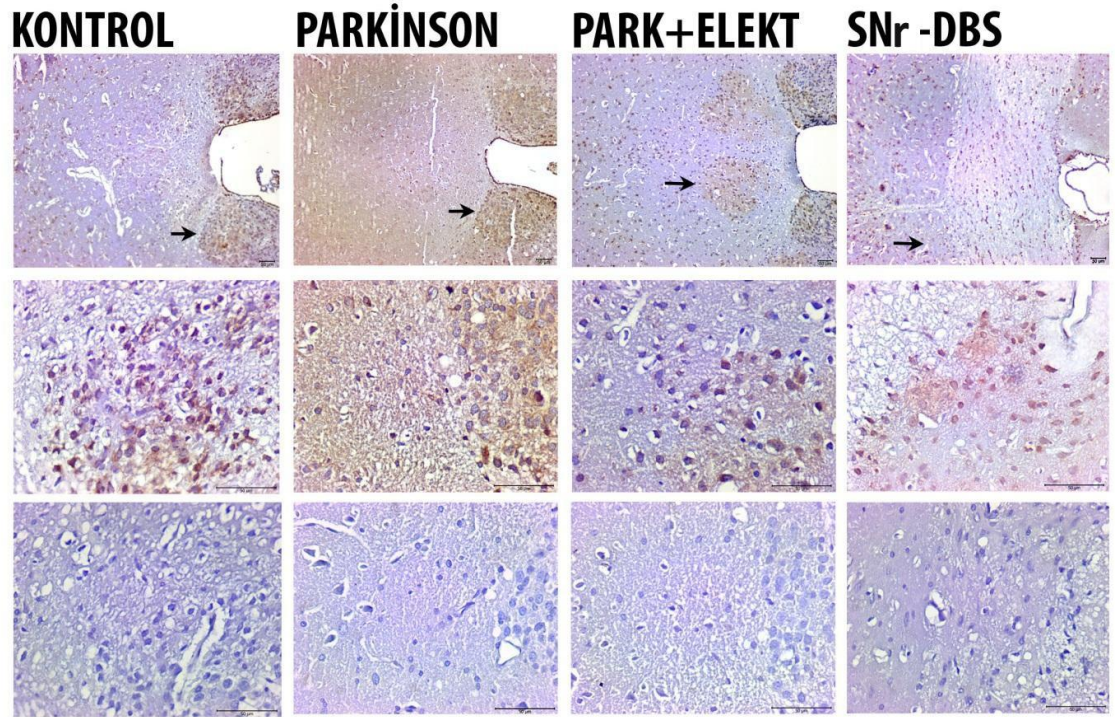
Şekil 4.15 Talamus c-fos Gruplar arasındaki ekspresyon farkları

Gruplar arasındaki ekspresyon farklarının Image J analizi ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen grafiklerdir. Parkinson ile SNr-DBS grubu arasında, Parkinson+Elektrod ve SNr-DBS grupları arasındaki ekspresyon istatistiksel olarak anlamlıdır. (*/** p <0,05)

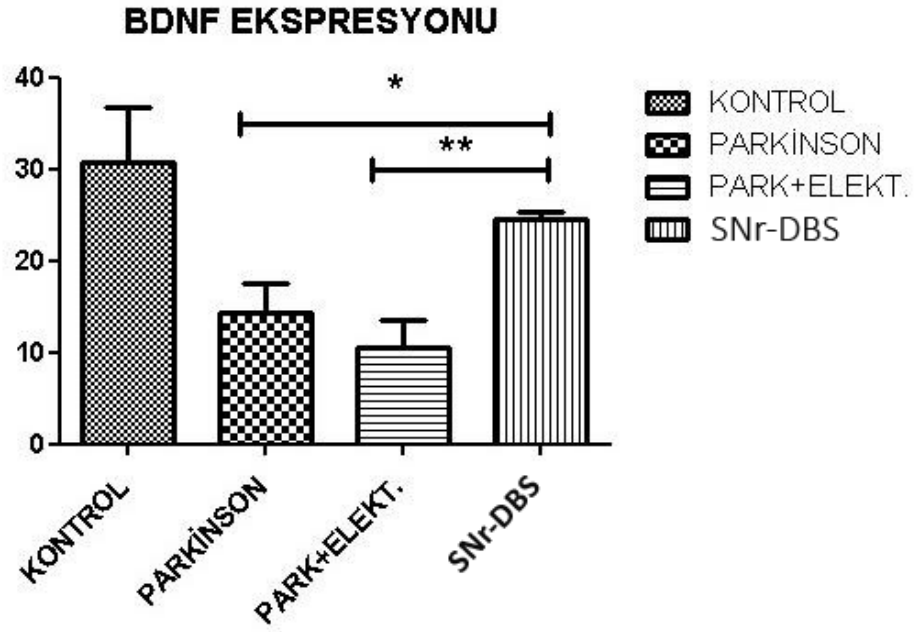
4.2.4.2. BDNF İmmünohistokimyası

BDNF immünohistokimyası sonucunda gruplar arasında talamus alanında ekspresyon farkları görülmektedir. Kontrol gruplarında gözlenen yoğun ekspresyonun Parkinson gruplarında kaybolduğu ve SNr-DBS gruplarında da yeniden arttığı görülmüştür. En alt satır aynı alanın negatif kontrollerini göstermektedir. Skala bar 50 μ m'dir.

BDNF İmmunohistokimyası



Şekil 4.16 Talamus BDNF immünohistokimya sonuçları



Şekil 4.17 Talamus BDNF Gruplar arasındaki ekspresyon farkları

Gruplar arasındaki ekspresyon farklarının Image J analizi ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen grafiklerdir. Parkinson ile SNr-DBS grubu arasında, Parkinson+Elektrod ve SNr-DBS grupları arasındaki ekspresyon istatistiksel olarak anlamlıdır. (*/** p <0,05)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada 6-OHDA ile oluşturulan deneysel PH modelinde SNr'ye yerleştirilen elektrodlarla DBS uygulanması sonucunda, PH'da azalan lokomotor aktivitenin iyileştiği, bozulan adım uzunlukları ve genişliklerinin ise düzeldiği bulunmuştur. Dengeyi ve motor koordinasyonu gösteren rotarod testi mil üzerinde kalma süreleri PH modeli oluşturulan hayvanlarda kısalmış DBS uygulanması ile artış göstermiş fakat önemli değere ulaşamamıştır. Motor korteks, serebellum ve talamus c -Fos ve BDNF seviyesinin PH modeli hayvanlarda azaldığı, derin beyin stimülasyonu ile arttığı tespit edilmiştir.

Deneysel PH hayvan modelleri, PH'da meydana gelen nöronal hasar ve hastalığın tedavisine yeni yöntemler geliştirmek için oldukça önemli rol oynamaktadır. Tez çalışması kapsamında deneysel PH modelini oluşturmak için 6-OHDA toksininin kullanımı tercih edilmiştir. 6-OHDA, doğal bir nörotransmitter olan dopaminin hidroksillenmiş analogudur. 6-OHDA deneysel PH modeli oluşturmak için kullanılan ilk toksindir. 6-OHDA, kan beyin bariyerini geçemediği için stereotaksik yöntemle uygulanması gerekmektedir (Blum ve ark., 2001). 6-OHDA; SN, MFB ve striatuma tek taraflı veya çift taraflı olarak uygulanabilmektedir. Çalışmamızda 6-OHDA striatuma çift taraflı verilmiştir. Bu yöntemimiz literatürle uyum içindedir (Spieles-Engemann ve ark., 2011). Locomotor bozukluklar PH'nın en önemli özelliklerinden biridir ve nöronal bozuklukların derecesini gösterir. 6-OHDA'nın dopaminerjik nöronları hasara uğratarak belirli lokomotor aktivite bozukluklarına neden olduğu bilinmektedir (Yıldırım ve ark., 2014). Locomotor aktivite ambulator, vertikal ve horizontal davranışların yanı sıra toplam lokomotor aktivite ve alınan mesafe olarak ölçülmüştür. 6-OHDA uygulamasının bu parametreleri de azalttığı bulunmuştur. Bu bulgular literatür bilgisi ile uyumludur (Qi ve ark., 2016).

PH'de cerrahi yöntemler uzun süredir kullanılmaktadır. Ablatif yöntemler ile oluşturulan lezyonların ve DBS'nin hücresel etkileri farklıdır. Lezyon tahribat etkisi gösterirken DBS'nin modülasyon etkisi mevcuttur (Benabid, 2003; Chiken ve Nambu, 2016). Ablatif yöntemlerden olan pallidotominin diskineizler üzerine uzun süreli etkisinin olduğu gösterilmiştir. Ancak bazı hastalarda yeniden DBS'e ihtiyaç duyulmaktadır ve ablatif

yöntemlerin çift taraflı uygulanamaması en büyük sınırlılıklarından birini oluşturmaktadır (Erdoğan ve Akbostancı, 2017). Bunun yanı sıra DBS'nin erken dönem etkileri incelendiğinde ablatif yöntemler ile benzer sonuçlar gösterdiği literatürde vurgulanmıştır (Mehanna ve Lai, 2013; Udupa ve Chen, 2015). Bu etkinin DBS elektrodlarının yerleştirilmesi sırasında hedef bölgede meydana gelen tahribattan kaynaklı olabileceği düşünülmüştür (Dostrovsky ve Lozano, 2002; Vitek, 2002). Çalışmada elde ettiğimiz sonuçları değerlendirdiğimize Parkinson+Sham Stimülasyon grubuna stimülasyon verilmediği halde lokomotor aktivite ve yürüme parametrelerinde Parkinson grubuna göre değişim gösterdiği, Parkinson+DBS grubuna çok benzer sonuçları olduğu görülmüştür. Bu durumun DBS' in kalıcı olmayan ve erken dönem etkisi sonucu oluşabileceğini düşünmekteyiz. DBS'nin etki mekanizmaları ile ilgili farklı hipotezler mevcuttur. En yaygın kabul gören hipotezlerden birisi DBS'nin depolarizasyon bloğu vasıtasıyla nöronal aktivitenin azalmasına neden olarak modülasyon sağlamasıdır (Dostrovsky ve Lozano, 2002; Vitek, 2002). Buna bağlı olarak DBS uygulanan grupta immunohistokimyasal parametreler Parkinson+Sham Stimülasyon grubuna göre oldukça farklılık göstermiştir.

DBS uygulamasında bir diğer önem arz eden husus ise hedef bölgenin belirlenmesidir (Martinez-Ramirez ve ark., 2015). DBS'nin kullanılmaya başlanıldığı ilk yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde daha sıklıkla GPi bölgesinin hedef bölge olarak seçildiği görülmüştür. GPi-DBS ile tremorde olumlu sonuçlar alınırken rijidite ve bradikinezi de yeterince iyi sonuçlar elde edilemediği vurgulanmıştır. Bir diğer önemli dezavantajı ise GPi-DBS uygulaması sonrası hastaların medikasyon dozajlarında önemli bir düşme görülmemiştir. Son yıllarda yaygınlaşan STN-DBS uygulamasında ise medikasyon dozajının önemli miktarda azaldığı izlenmiştir (Saint-Cyr ve ark., 2000; Berney ve ark., 2002; Temel ve ark., 2004). Bu sayede PH' de sıklıkla görülen ilaç dozajına bağlı olarak oluşan diskinezinin önüne geçilebilmiştir. STN-DBS uygulaması ile tremor ve rijiditede daha iyi sonuçlar elde edilirken postural insitabilitede ve buna bağlı olarak yürüme parametrelerinde benzer sonuçlar elde edilememiştir. Ayrıca STN-DBS' nin kognitif fonksiyonlar üzerine olumsuz etkisi uzun zamandır tartışılmaktadır (Temel ve Visser-Vandewalle, 2006). Bu durumlar DBS uygulaması için yeni hedef bölge arayışlarını arttırmaktadır. Buna bağlı olarak tez çalışması kapsamında hedef bölge olarak seçtiğimiz SNr'nin DBS ile uyarılması ile yürüme parametreleri üzerinde elde ettiğimiz olumlu

veriler neticesinde SNr-DBS uygulanmasının hipotezimizi destekler nitelikte olduğu saptanmıştır. SNr bölgesinin bazal gangliyonların çıkış çekirdeklerinden birisi olması, bazal gangliyonlar ile yürüme merkezleri (PPN, MLR, serebellum) arasındaki iletişimde önemli rol üstlenmesinden dolayı bu bölgeye yapılacak DBS'in postural insitabilite ve dolayısıyla yürümeye katkı sağlayacağı düşünülmüştür. Elde ettiğimiz bulgulara davranışsal testler sırasında SNr-DBS'nin katkısı olduğu saptanmıştır. Rotarod testinde Parkinson grubuna göre düzelme olsa da sağlıklı kontrol grubuna göre halen daha düşük kalma sürelerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun rotarod testinin yalnızca yürüme paterni değil, dengeden de sorumlu farklı mekanizmaların devreye girmesinden kaynaklı olduğu kanısına varılmıştır. Daha önce SNr-DBS ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde SNr-DBS'nin akut etkisinin değerlendirildiği, ancak kronik etkisinin henüz incelenmediği gözlenmiştir. Elde ettiğimiz bulgular hayvan modelinde ilk kez SNr-DBS'nin kronik etkisini göstermesi ile de literatüre katkı sağlayacağını göstermiştir.

DBS uyarılma elektrodları, STN veya SNr'ye yerleştirilerek PH semptomları ortadan kaldırılmaya çalışılmaktadır. SNr'ye DBS ile uyarı verilerek yapılan deneysel çalışmaların sayısı ise oldukça azdır (Chastan ve ark., 2008; Weiss ve ark., 2013). Uygulanan uyarının şiddeti, süresi ve frekansı literatürde kullanılan değerlere uygun olarak uygulanmıştır (Fang ve ark., 2010).

Klinik çalışmalarda, STN'nin uyarılmasının tremor ve bradikineziyi azaltmasına rağmen yürüyüş bozukluklarını düzeltmede yetersiz kaldığı görülmüştür (Kocabicak ve Temel, 2013). Tez çalışması kapsamında elde edilen bulgulara SNr'ye konulan elektrodlardan verilen uyarıların düzeltici etkisinin olduğu saptanmıştır. Nitekim SNr'nin farmakolojik ajanlarla inhibisyonunun, lokomotor aktivitelerin düzelmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Morelli ve ark., 1980). SNr'nin yüksek frekansta stimülasyonunun ön bacak fonksiyonlarını düzelttiğinin görülmesi, çalışmamızın bulguları ile uyum içindedir (Blum ve ark., 2001).

Deneysel Parkinson grubunda ön ve arka ayak adım uzunluğu sağlıklı kontrol grubuna göre azalmıştır. Taban genişliği ise deneysel Parkinson grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre artmıştır. Bu da PH modeli hayvanların daha geniş tabanlı bastıkları ve adım mesafesinin kısaldığını göstermektedir. Adım uzunluğu ve hızındaki değişiklik PH'nın

süresi ve ilerlemesi için kullanılan önemli bir işaret olduğu bilinmektedir (Bayle ve ark., 2016). Daha önceki deneysel çalışmalarda adım uzunluğunun PH'da azaldığı, bu azalmanın lezyon sayısı ile ilişkili olduğu görülmüştür. Tek lezyonun etkili olmadığı halde 4 lezyon oluşturulan grupta adım uzunluğunun azaldığı bilinmektedir (Fang ve ark., 2010). Bu bulgular bizim bulgularımızla destekler niteliktedir. Önceki literatür çalışmalarında, STN'nin yüksek voltajla uyarılmasıyla adım uzunluklarının arttığı tespit edilmiştir (Fang ve ark., 2006; Fang ve ark., 2010). Ayrıca Parkinson hastalarında yapılan çalışmalarda STN'nin DBS ile uyarılmasının ardından PH'da kısalan adım uzunluğunun arttığı bulunmuştur (Bayle ve ark., 2016). Rotarod, motor koordinasyonu ve dengeyi gösteren bir parametredir. PH modeli oluşturulan hayvanlarda mil üzerinde kalma sürelerinin kısalmış olduğu, DBS ile uyarılmasının ardından ise kalma süresinin arttığı fakat anlamlı değere ulaşmadığı saptanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda tekli lezyonlarda düşük voltajların etkili olmadığı ancak 200 mikro amperlik uyarının rotarodda mil üzerinde durma süresini artırdığı gösterilmiştir (Fang ve ark., 2006). Bu çalışmada 200 mikroamper kullanılmadığı için bu durum beklenen bir sonuçtur.

TH, SN alanında yer alan dopaminerjik nöronları işaretleyen bir ajandır. Bu boyanma paterni her grup için aynı alanın seçilmesiyle değerlendirilmiş ve sonuçlar gruplar arasındaki ekspresyon şiddetlerinin kıyaslanmasıyla yorumlanmıştır. 6-OHDA uygulaması ile dopaminerjik nöronların azaldığı, DBS uygulamasının ise, TH(+) nöron sayısını artırdığı görülmektedir. DBS uygulanması ile PH'da nöronların restore edildiği daha önce yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Olanow ve ark., 2015). TH(+) nöronlar üzerine nöroprotektif ve restore edici etkide, birçok büyüme faktörü ile birlikte CDNF de retrograd taşınma yolu ile rolünün olduğu daha önce yapılmış çalışmalarda bildirilmiştir (Voutilainen ve ark., 2009; Voutilainen ve ark., 2011). Ayrıca DBS'in oluşturduğu restorasyonda GDNF ve BDNF'nin de rollerinin olduğu bilinmektedir (Voutilainen ve ark., 2009; Voutilainen ve ark., 2011; Ren ve ark., 2013). BDNF, nörotrofin ailesinin bir üyesi olup merkezi ve çevresel sinir sisteminde nöronların yaşamasında, büyümesinde ve fonksiyonlarında görev almaktadır. Bu görevlerinden dolayı BDNF'nin hem mRNA hem de protein düzeyinde ekspresyonu serebellum, hipokampus, bulbus olfaktorius, medulla spinalis, talamus, prefrontal serebral korteks, hipotalamus, amigdala, koku sisteminin projeksiyon bölgeleri, striatum ve superior kollikulusta tespit edilmiştir (Siegel ve

Chauhan, 2000). Ancak günümüzde BDNF ekspresyonunun bazı fizyolojik ve patolojik durumlarda değiştiği vurgulanmaktadır. Özellikle, merkezi sinir sisteminde esasen nöronların gelişmelerine ve kendilerini yenilemelerine yardımcı olurken, önemli sinir yollarının da sorunsuzca işlemesine katkıda bulunmaktadır. Literatürde 6-OHDA ile Parkinson modeli oluşturulmuş sıçanlarda SNr nöromodulasyonunun BDNF düzeyine etkilerini araştıran bir çalışma bulunmamakla birlikte MPTP verilmesinin BDNF'yi azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Gao ve ark., 2015). Ayrıca STN'nin DBS ile uyarılmasının, motor korteks BDNF miktarını da artırdığı tespit edilmiştir (Spieles-Engemann ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda da SNr ile bağlantılı nöroanatomik yollarda, SNR DBS sonrası BDNF artışı tespit edilmiştir.

Bu çalışmada yapıldığı gibi sonuçlar, hayvan davranışlarına yansıyan yürüme parametrelerindeki düzelmeye uyumlu bulunmuştur. Bu durum, ortaya çıkan PH hasarının kısmen düzeltilebileceğini ve bunun da yürüme parametresine yansıyabileceğini göstermektedir. Serebellum histolojik olarak 3 tabakadan oluşmaktadır. Her tabakasında da fonksiyonel olarak önemli role sahip ve diğer tabakalarla da ilişkide olan çok sayıda hücre yer almaktadır. DBS'nin etkisiyle SN alanında dopaminerjik nöronların ekspresyonlarında uzun dönem etkiye bağlı olarak BDNF'nin rolü değerlendirilmiştir.

c-fos immünohistokimyasal olan nöronları belirlemek için önemlidir. c-fos ekspresyonu nöronal aktivite için bir işaretçidir (Chuang ve ark., 2018). Literatürde, DBS sonrası bağlantı yollarındaki bölgelerde c-fos immünohistokimyasal haritalaması yer almadığından çalışmada yer alan bu bilgi oldukça önemli olup bu konuda literatüre de önemli bir katkı sağlayacaktır. Frontal korteks, serebellumda ve talamus c-fos düzeylerinin PH'da azaldığı, DBS uyarılmasıyla arttığı görülmektedir. Parkinson ve anksiyete çalışmalarında DBS kullanılması, network modülasyonunu tetiklemektedir. Yollarda DBS ile nöronların aktivitesinin uyarıldığı gösterilmiştir (Saryyeva ve ark., 2011; Furlanetti ve ark., 2016; Wscieklica ve ark., 2017).

SNr uyarılmasının serebellum, frontal korteks ve talamusta c-fos ve BDNF'yi arttırdığı ek olarak lokomotor aktivite ve adımlama parametreleri üzerine de etkili olduğu bulunmuştur. Çalışma sonuçları, DBS'nin SNr'ye uygulanarak tedaviye katkıda bulunacağını işaret etmektedir. Bu etkiyi nöroplastisiteyi değiştirerek sağladığı

saptanmıştır. Ancak yolakların aydınlatılması için ileri çalışmalara gereksinim olduğu düşünülmektedir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. SNr, yürüme bozukluklarının düzeltilmesi için DBS hedef belirlenmesinde alternatif bir hedef alan olarak başarılı sonuçlar vermiştir.
2. SNr bölgesine DBS ile uyarı yapılarak yürüme bozukluklarının düzeldiği tespit edilmiştir.
3. DBS aynı şekilde lokomotor aktiviteyi de düzeltmiştir.
4. Denge ve motor koordinasyona SNr DBS'in aynı şekilde etki etmediği görülmüştür.
5. Tez çalışması kapsamında DBS ile SNr uyarılmış, talamus serebellum ve frontal kortekste c-fos ve BDNF nin arttığı görülmüştür.
6. DBS düzeltici etkisini BDNF üzerinden oluşturmaktadır. Verilen uyarı ile TH (+) nöron sayısının artmış olduğu saptanmıştır.

7. ÖZET

Derin beyin stimölasyonu, Parkinson hastalığında (PH) tedavi amaçlı kullanılan bir metottur. Deneysel PH modeli oluşturulan sıçanlarda substansiya nigranın pars retikölata (SNr) bölgesine yerleştirilen elektrodun yürüme bozukluklarına etkisi ve bu etkide rol alan mekanizmayı incelemek amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

Tez çalışması kapsamında 280-300 g erkek Wistar sıçanlar kullanılmıştır. Hayvanlar rastgele 4 gruba ayrılmıştır. 1-) Sağlıklı hayvan grubu (Kontrol) 2-) Bilateral striatal 6-OHDA lezyon oluşturulan grup (Parkinson grubu), 3-) Bilateral striatal 6-OHDA verilen ve SNr elektrod yerleştirilen grup (Parkinson+Sham stimölasyon) 4-) Bilateral striatal 6-OHDA lezyonu oluşturulan ve SNr stimölasyon uygulanan grup (Parkinson+SNr Stimölasyon). Elektriksel uyarı, 14 gün boyunca günde 3 saat uygulanmıştır. Davranış testleri yapıldıktan sonra ise deneye son verilmiştir. Hayvanların beyinleri alınarak substansiya nigra (SN), serebellum, frontal korteks ve talamus bölgeleri immünohistokimyasal çalışmalarda kullanılmıştır.

Lokomotor aktivitesinde kaydedilen dikey, yatay, ortalama mesafeler ve toplam LMA değerlerinin PD gruplarında azaldığı ve elektrik stimölasyonu ile arttığı bulunmuştur. Yürüme analizinde, ön ve arka ayak basamağı uzunluklarının azaldığı ve elektrik stimulusunun Parkinson grubunda değerleri iyileştirdiği tespit edilmiştir. Beyincik ve frontal lob beyinden türetilmiş nöral faktör (BDNF) ve c-fos içeren hücreler sayılmıştır. Parkinson grubunun serebellum, frontal lob ve talamus bölgelerinde sayıların azaldığı ve elektrik stimölasyonundan sonra arttığı bulunmuştur.

Çalışmamızın sonuçları, SNr bölgesini uyarmanın deneysel Parkinson modeli oluşturulan sıçanlarda yürüyüş bozukluklarını düzelittiği, bu düzelmenin mekanizmasında ise BDNF'nin rolünün olduğunu işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Parkinson Hastalığı, BDNF, c-fos, Derin Beyin Stimölasyonu, Substansia Nigra Pars Retikölata

8. ABSTRACT

Deep brain stimulation is a method of treatment for Parkinson's disease (PD). This study was planned to investigate the effects of electrodes on gait disturbances which were placed in the pars reticulata (SNr) region of the substantia nigra (SN) and the mechanism involved in this effect in the experimental rat models of PD.

In our study, 280-300 g male Wistar rats were used. The animals were randomly divided into 4 groups. 1-Healthy group of animals (Control), 2- Bilateral striatal 6-OHDA lesion group (Parkinson group), 3-Group with bilateral striatal 6-OHDA and SNr electrode placed (Parkinson + Sham stimulation), 4-Group with bilateral striatal 6-OHDA and SNr stimulation (Parkinson + SNr Stimulation). The electrical stimulation was applied for 3 hours daily for 14 days. After the behavior tests were done, the experiment was terminated. Brains of animals were taken and used for immunohistochemical studies of the SN, cerebellum, frontal cortex and thalamus regions.

Vertical, horizontal, mean distances and total LMA values recorded in locomotor activity were found to decrease in PD groups and increase with electrical stimulation. In walking analysis, it was determined that front and rear foot step lengths were decreased and electrical stimulus improved the values in Parkinson group. Cerebellum and frontal lobe brain-derived neural factor (BDNF) and c-fos containing cells were counted. It was found that the numbers were decreased in cerebellum, frontal lobe and thalamus regions of Parkinson group and increased after electrical stimulation.

The results of our study indicate that stimulation of the SNr region improves gait disturbances in the experimental Parkinsonian model of rats and that BDNF is involved in this mechanism.

Key words: Parkinson Disease, BDNF, c-fos, Deep Brain Stimulation, Substansia Nigra Pars Reticulate

9. KAYNAKLAR

- Adler, C. H., & Ahlskog, J. E. Parkinson's disease and movement disorders: Diagnosis and treatment guidelines for the practicing physician: Springer Science & Business Media; 2000, 411.
- Akbostancı, M., Usar, S., & Savaş, A. Parkinson hastalığının cerrahi tedavisi-literatüre bir bakış. *Türk Nöroşirurji Dergisi*. 2001; 11: 151-162.
- Akbostancı, M. C. Parkinson hastalığının değerlendirilmesinde kullanılan ölçekler ve yeni updrs. *Türkiye Klinikleri Journal of Neurology Special Topics*. 2008; 1 (4): 115-117.
- Albin, R. L., Young, A. B., & Penney, J. B. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends in neurosciences*. 1989; 12 (10): 366-375.
- Alexander, G. E., Crutcher, M. D., & DeLong, M. R. Basal ganglia-thalamocortical circuits: Parallel substrates for motor, oculomotor, "prefrontal" and "limbic" functions. *Progress in brain research*. 1991; 85: 119-146.
- Allen, P. J., & Feigin, A. Gene-based therapies in parkinson's disease. *Neurotherapeutics*. 2014; 11 (1): 60-67.
- Alonso, P., Cuadras, D., Gabriëls, L., Denys, D., Goodman, W., Greenberg, B. D., Jimenez-Ponce, F., Kuhn, J., Lenartz, D., & Mallet, L. Deep brain stimulation for obsessive-compulsive disorder: A meta-analysis of treatment outcome and predictors of response. *PloS one*. 2015; 10 (7).
- An, J. J., Gharami, K., Liao, G.-Y., Woo, N. H., Lau, A. G., Vanevski, F., Torre, E. R., Jones, K. R., Feng, Y., & Lu, B. Distinct role of long 3' utr bdnf mrna in spine morphology and synaptic plasticity in hippocampal neurons. *Cell*. 2008; 134 (1): 175-187.
- Andersen, P. H., & Jansen, J. A. Dopamine receptor agonists: Selectivity and dopamine d1 receptor efficacy. *European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology*. 1990; 188 (6): 335-347.
- Apaydın, H., Ertan, S., & Özemekçi, S. Parkinson hastalığı el kitabı. Cerrahpaşa Tıp Fak. Nöroloji ABD. Hareket Bozuklukları Birimi. 2000: 23-30.
- Baba, Y., Wrahen, R., & Uitti, R. Surgeal treatment-steretactic procedures., yazar: Manuchair s. Ebadi, ronald pfeiffer., parkinson's disease. CRC Pres New York. 2005: 1158-1193.
- Bakish, D., & Hooper, C. L. Drug action in the central nervous system. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*. 1998; 23 (3): 183.
- Barde, Y.-A., Edgar, D., & Thoenen, H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *The EMBO journal*. 1982; 1 (5): 549-553.
- Bathina, S., & Das, U. N. Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. *Archives of Medical Science*. 2015; 11 (6): 1164-1178.
- Bayle, N., Patel, A. S., Crisan, D., Guo, L. J., Hutin, E., Weisz, D. J., Moore, S. T., & Gracies, J.-M. Contribution of step length to increase walking and turning speed as a marker of parkinson's disease progression. *PloS one*. 2016; 11 (4).
- Begni, V., Riva, M. A., & Cattaneo, A. Cellular and molecular mechanisms of the brain-derived neurotrophic factor in physiological and pathological conditions. *Clinical Science*. 2017; 131 (2): 123-138.

- Benabid, A. L. Deep brain stimulation for parkinson's disease. *Current opinion in neurobiology*. 2003; 13 (6): 696-706.
- Benabid, A. L., Pollak, P., Louveau, A., Henry, S., & de Rougemont, J. Combined (thalamotomy and stimulation) stereotactic surgery of the vim thalamic nucleus for bilateral parkinson disease. *Applied neurophysiology*. 1987; 50 (1-6): 344-346.
- Berney, A., Vingerhoets, F., Perrin, A., Guex, P., Villemure, J.-G., Burkhard, P.-R., Benkelfat, C., & Ghika, J. Effect on mood of subthalamic dbs for parkinson's disease a consecutive series of 24 patients. *Neurology*. 2002; 59 (9): 1427-1429.
- Blandini, F., Nappi, G., Tassorelli, C., & Martignoni, E. Functional changes of the basal ganglia circuitry in parkinson's disease. *Progress in neurobiology*. 2000; 62 (1): 63-88.
- Blum, D., Torch, S., Lambeng, N., Nissou, M. F., Benabid, A. L., Sadoul, R., & Verna, J. M. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-ohda, dopamine and mptp: Contribution to the apoptotic theory in parkinson's disease. *Progress in neurobiology*. 2001; 65 (2): 135-172.
- Braak, H., Del Tredici, K., Rüb, U., De Vos, R. A., Steur, E. N. J., & Braak, E. Staging of brain pathology related to sporadic parkinson's disease. *Neurobiology of aging*. 2003; 24 (2): 197-211.
- Braak, H., Ghebremedhin, E., Rüb, U., Bratzke, H., & Del Tredici, K. Stages in the development of parkinson's disease-related pathology. *Cell and tissue research*. 2004; 318 (1): 121-134.
- Braak, H., Müller, C., Rüb, U., Ackermann, H., Bratzke, H., De Vos, R., & Del Tredici, K. Pathology associated with sporadic parkinson's disease—where does it end? *Parkinson's Disease and Related Disorders*. 2006: 89-97.
- Brenner, M., Haass, A., Jacobi, P., & Schimrigk, K. Amantadine sulphate in treating parkinson's disease: Clinical effects, psychometric tests and serum concentrations. *Journal of neurology*. 1989; 236 (3): 153-156.
- Brunenberg, E. J., Moeskops, P., Backes, W. H., Pollo, C., Cammoun, L., Vilanova, A., Janssen, M. L., Visser-Vandewalle, V. E., ter Haar Romeny, B. M., & Thiran, J.-P. Structural and resting state functional connectivity of the subthalamic nucleus: Identification of motor STN parts and the hyperdirect pathway. *PloS one*. 2012; 7 (6).
- Calabresi, P., Picconi, B., Tozzi, A., Ghiglieri, V., & Di Filippo, M. Direct and indirect pathways of basal ganglia: A critical reappraisal. *Nature neuroscience*. 2014; 17 (8): 1022.
- Cebrián, C., Parent, A., & Prensa, L. The somatodendritic domain of substantia nigra pars reticulata projection neurons in the rat. *Neuroscience research*. 2007; 57 (1): 50-60.
- Chastan, N., Westby, G., Yelnik, J., Bardinet, E., Do, M.-C., Agid, Y., & Welter, M. Effects of nigral stimulation on locomotion and postural stability in patients with parkinson's disease. *Brain*. 2008; 132 (1): 172-184.
- Chiken, S., & Nambu, A. Mechanism of deep brain stimulation: Inhibition, excitation, or disruption? *The Neuroscientist*. 2016; 22 (3): 313-322.
- Chuang, C.-F., Wu, C.-W., Weng, Y., Hu, P.-S., Yeh, S.-R., & Chang, Y.-C. High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus activates motor cortex pyramidal tract neurons by a process involving local glutamate, gaba and dopamine receptors in hemi-parkinsonian rats. *The Chinese journal of physiology*. 2018; 61(2):92-105.

- Cossette, M., Lévesque, D., & Parent, A. Neurochemical characterization of dopaminergic neurons in human striatum. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2005; 11 (5): 277-286.
- Coune, P. G., Schneider, B. L., & Aebischer, P. Parkinson's disease: Gene therapies. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2012, 2(4).
- Cuello, C., Hiley, R., & Iversen, L. Use of catechol o-methyltransferase for the enzyme radiochemical assay of dopamine. *Journal of neurochemistry*. 1973; 21 (5): 1337-1340.
- Cumhur, M., Sargon, M. F., Sürücü, H. S., İlgi, S., Sancak, B., Taner, D., Akşit, D., Kural, E., Başar, R., & Mürvet, T. Fonksiyonel nöroanatomi: ODTÜ Geliştirme Vakfı; 2007, 43.
- Çakmur, R. Parkinson hastalığının epidemiyolojisi ve klinik özellikleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Neurology*. 2003; 1 (3): 160-163.
- Çeliker, Ö. İdiopatik parkinson hastalığında stn ve gpi derin beyin stimülasyonunun motor semptomlar, non-motor semptomlar ve denge üzerine etkisinin değerlendirilmesi. *Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi*, 2015, 15-25.
- De Lau, L. M., & Breteler, M. M. Epidemiology of parkinson's disease. *The Lancet Neurology*. 2006; 5 (6): 525-535.
- Del Tredici, K., Rüb, U., De Vos, R. A., Bohl, J. R., & Braak, H. Where does parkinson disease pathology begin in the brain? *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2002; 61 (5): 413-426.
- DeLong, M., & Wichmann, T. Update on models of basal ganglia function and dysfunction. *Parkinsonism & related disorders*. 2009; 15 Suppl 3 (0 3): S237-S240.
- DeLong, M. R., & Georgopoulos, A. P. Motor functions of the basal ganglia. *Handbook of Physiology. The Nervous System. Motor Control*. 1981; 2: 1017-1061.
- Deniau, J., Kitai, S., Donoghue, J., & Grofova, I. Neuronal interactions in the substantia nigra pars reticulata through axon collaterals of the projection neurons. *Experimental brain research*. 1982; 47 (1): 105-113.
- Deumens, R., Blokland, A., & Prickaerts, J. Modeling parkinson's disease in rats: An evaluation of 6-ohda lesions of the nigrostriatal pathway. *Experimental neurology*. 2002; 175 (2): 303-317.
- Dexter, D. T., & Jenner, P. Parkinson disease: From pathology to molecular disease mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine*. 2013; 62: 132-144.
- Dostrovsky, J. O., & Lozano, A. M. Mechanisms of deep brain stimulation. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*. 2002; 17 (S3): S63-S68.
- Duvason, R. History of parkinsonizm. *Pharmacology and Therapeutics*. 1937; 32: 1-17.
- Erdoğan, S., & Akbostancı, M. C. Parkinson hastalığında cerrahi için hasta seçimi. *Parkinson Hastalığı ve Hareket Bozuklukları Dergisi*. 2017; 20 (1-2): 33-40.
- Erer, S., & Zarifoğlu, M. Parkinson hastalığında güncel medikal tedavi yaklaşımları the current medical management of parkinson's disease. 2008: 45-56.
- Fahn, S. Description of parkinson's disease as a clinical syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2003; 991 (1): 1-14.
- Fang, X., Sugiyama, K., Akamine, S., & Namba, H. Improvements in motor behavioral tests during deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in rats with different degrees of unilateral parkinsonism. *Brain research*. 2006; 1120 (1): 202-210.

- Fang, X., Sugiyama, K., Akamine, S., Sun, W., & Namba, H. The different performance among motor tasks during the increasing current intensity of deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in rats with different degrees of the unilateral striatal lesion. *Neuroscience letters*. 2010; 480 (1): 64-68.
- Faull, R. L. M., & Mehler, W. R. The cells of origin of nigrotectal, nigrothalamic and nigrostriatal projections in the rat. *Neuroscience*. 1978; 3 (11): 989-1002.
- Fisch, T. M., Prywes, R., & Roeder, R. G. C-fos sequence necessary for basal expression and induction by epidermal growth factor, 12-o-tetradecanoyl phorbol-13-acetate and the calcium ionophore. *Molecular and cellular biology*. 1987; 7 (10): 3490-3502.
- Fisher, R., Salanova, V., Witt, T., Worth, R., Henry, T., Gross, R., Oommen, K., Osorio, I., Nazzaro, J., & Labar, D. Electrical stimulation of the anterior nucleus of thalamus for treatment of refractory epilepsy. *Epilepsia*. 2010; 51 (5): 899-908.
- Fodstad, H., & Hariz, M. Electricity in the treatment of nervous system disease. *Acta neurochirurgica. Supplement*. 2007; 97 (1): 11-19.
- Francisco, G., Kathari, S., Schiess, M., & Kaldis, T. Parkinson hastalığı ve diğer hareket bozukluğu olan hastaların rehabilitasyonu. *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon İlkeler ve Uygulamalar*. 2007; 4: 809-828.
- Freeze, B. S., Kravitz, A. V., Hammack, N., Berke, J. D., & Kreitzer, A. C. Control of basal ganglia output by direct and indirect pathway projection neurons. *Journal of Neuroscience*. 2013; 33 (47): 18531-18539.
- Furlanetti, L., Coenen, V. A., & Döbrössy, M. Ventral tegmental area dopaminergic lesion-induced depressive phenotype in the rat is reversed by deep brain stimulation of the medial forebrain bundle. *Behavioural brain research*. 2016; 299: 132-140.
- Gale, J. T., Amirnovin, R., Williams, Z. M., Flaherty, A. W., & Eskandar, E. N. From symphony to cacophony: Pathophysiology of the human basal ganglia in parkinson disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2008; 32 (3): 378-387.
- Gao, L., Li, C., Yang, R.-Y., Lian, W.-W., Fang, J.-S., Pang, X.-C., Qin, X.-M., Liu, A.-L., & Du, G.-H. Ameliorative effects of baicalein in mptp-induced mouse model of parkinson's disease: A microarray study. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2015; 133: 155-163.
- Gerfen, C. R., & Bolam, J. P. The neuroanatomical organization of the basal ganglia. *Handbook of Behavioral Neuroscience*. 2010; 20: 3-28.
- Ghez, C., & Thach, T. The cerebellum. Chapter 41. Kandel, ER, Schwartz, jH, and jessen, TM (eds): *Principles of Neural Science*, ed. 2000; 3: 1152.
- Gibb, W., & Lees, A. The relevance of the lewy body to the pathogenesis of idiopathic parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1988; 51 (6): 745-752.
- Gibb, W. R. Melanin, tyrosine hydroxylase, calbindin and substance p in the human midbrain and substantia nigra in relation to nigrostriatal projections and differential neuronal susceptibility in parkinson's disease. *Brain Res*. 1992; 581 (2): 283-291.
- Greenberg, M. E., & Ziff, E. B. Stimulation of 3t3 cells induces transcription of the c-fos proto-oncogene. *Nature*. 1984; 311 (5985): 433.

- Grofova, I., Deniau, J., & Kitai, S. Morphology of the substantia nigra pars reticulata projection neurons intracellularly labeled with hrp. *Journal of Comparative Neurology*. 1982; 208 (4): 352-368.
- Group, P. S. Pramipexole vs levodopa as initial treatment for parkinson disease: A randomized controlled trial. *Jama*. 2000; 284 (15): 1931-1938.
- Haber, S. N., & Groenewegen, H. J. Interrelationship of the distribution of neuropeptides and tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the human substantia nigra. *The Journal of comparative neurology*. 1989; 290 (1): 53-68.
- Hassler, R., Riechert, T., Mundinger, F., Umbach, W., & Ganglberger, J. Physiological observations in stereotaxic operations in extrapyramidal motor disturbances. *Brain*. 1960; 83 (2): 337-350.
- Herrera, D. G., & Robertson, H. A. Activation of c-fos in the brain. *Progress in neurobiology*. 1996; 50 (2-3): 83-107.
- Hosobuchi, Y., Adams, J. E., & Rutkin, B. Chronic thalamic stimulation for the control of facial anesthesia dolorosa. *Archives of neurology*. 1973; 29 (3): 158-161.
- Hughes, A. J., Daniel, S. E., Kilford, L., & Lees, A. J. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic parkinson's disease: A clinico-pathological study of 100 cases. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1992; 55 (3): 181-184.
- J Allen, S., J Watson, J., & Dawbarn, D. The neurotrophins and their role in alzheimer's disease. *Current neuropharmacology*. 2011; 9 (4): 559-573.
- Jankovic, J. Pathophysiology and clinical assessment of parkinsonian symptoms and signs. *Neurological Disease and Therapy*. 2003; 59: 71-108.
- Jankovic, J. Motor fluctuations and dyskinesias in parkinson's disease: Clinical manifestations. *Movement Disorders*. 2005; 20 (S11): S11-S16.
- Jellinger, K. A. Pathology of parkinson's disease. *Molecular and Chemical Neuropathology*. 1991; 14 (3): 153-197.
- Kalinderi, K., Fidani, L., Katsarou, Z., & Bostantjopoulou, S. Pharmacological treatment and the prospect of pharmacogenetics in parkinson's disease. *International journal of clinical practice*. 2011; 65 (12): 1289-1294.
- Karataş, Y. Treatment of parkinson's disease. *Turkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences Pharmacology*. 2005; 1 (44): 67-75.
- Katzenschlager, R., Sampaio, C., Costa, J., & Lees, A. Anticholinergics for symptomatic management of parkinson s disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2002; (3): 2.
- Keus, S. H., Munneke, M., Nijkrake, M. J., Kwakkel, G., & Bloem, B. R. Physical therapy in parkinson's disease: Evolution and future challenges. *Movement disorders*. 2009; 24 (1): 1-14.
- Kim, K.-M., Nakajima, S., & Nakajima, Y. Dopamine and gaba receptors in cultured substantia nigra neurons: Correlation of electrophysiology and immunocytochemistry. *Neuroscience*. 1997; 78 (3): 759-769.
- Kocabicak, E., & Temel, Y. Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in parkinson's disease: Surgical technique, tips, tricks and complications. *Clinical neurology and neurosurgery*. 2013; 115 (11): 2318-2323.
- Kostic, V., Przedborski, S., Flaster, E., & Sternic, N. Early development of levodopa-induced dyskinesias and response fluctuations in young-onset parkinson's disease. *Neurology*. 1991; 41 (2 Part 1): 202-202.

- Kringelbach, M. L., Green, A. L., Owen, S. L., Schweder, P. M., & Aziz, T. Z. Sing the mind electric—principles of deep brain stimulation. *European Journal of Neuroscience*. 2010; 32 (7): 1070-1079.
- Kuzuhara, S., Mori, H., Izumiyama, N., Yoshimura, M., & Ihara, Y. Lewy bodies are ubiquitinated. *Acta neuropathologica*. 1988; 75 (4): 345-353.
- Lang, A. E., & Lees, A. Management of parkinson's disease: An evidence-based review. *Mov Disord*. 2002; 17 (Suppl 4): S1-S166.
- Lee, C. R., & Tepper, J. M. Morphological and physiological properties of parvalbumin- and calretinin-containing γ -aminobutyric acidergic neurons in the substantia nigra. *Journal of Comparative Neurology*. 2007; 500 (5): 958-972.
- Lee, C. R., & Tepper, J. M. Basal ganglia control of substantia nigra dopaminergic neurons. Birth, life and death of dopaminergic neurons in the substantia nigra. 2009: 71-90.
- Leibrock, J., Lottspeich, F., Hohn, A., Hofer, M., Hengerer, B., Masiakowski, P., Thoenen, H., & Barde, Y.-A. Molecular cloning and expression of brain-derived neurotrophic factor. *Nature*. 1989; 341 (6238): 149-152.
- Lewin, G. R., & Carter, B. D. Neurotrophic factors: Springer; 2014, 481-495.
- LeWitt, P. A. Levodopa for the treatment of parkinson's disease. *New England Journal of Medicine*. 2008; 359 (23): 2468-2476.
- Lozano, A. M., & Lipsman, N. Probing and regulating dysfunctional circuits using deep brain stimulation. *Neuron*. 2013; 77 (3): 406-424.
- Lu, B., Nagappan, G., Guan, X., Nathan, P. J., & Wren, P. Bdnf-based synaptic repair as a disease-modifying strategy for neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neuroscience*. 2013; 14: 401.
- MacLeod, N., James, T., Kilpatrick, I., & Starr, M. Evidence for a gabaergic nigrothalamic pathway in the rat. *Experimental brain research*. 1980; 40 (1): 55-61.
- Majsak, M. J., Kaminski, T., Gentile, A. M., & Flanagan, J. R. The reaching movements of patients with parkinson's disease under self-determined maximal speed and visually cued conditions. *Brain: a journal of neurology*. 1998; 121 (4): 755-766.
- Markram, H., Gerstner, W., & Sjöström, P. J. A history of spike-timing-dependent plasticity. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*. 2011; 3 (4),1-24.
- Marsden, C. Function of the basal ganglia as revealed by cognitive and motor disorders in parkinson's disease. *Canadian Journal of Neurological Sciences*. 1984; 11 (S1): 129-135.
- Martinez-Ramirez, D., Hu, W., Bona, A. R., Okun, M. S., & Shukla, A. W. Update on deep brain stimulation in parkinson's disease. *Translational neurodegeneration*. 2015; 4 (1): 12-20.
- Mazars, G., Merienne, L., & Cioloca, C. [treatment of certain types of pain with implantable thalamic stimulators]. *Neuro-Chirurgie*. 1974; 20 (2): 117-124.
- McIntyre, C. C., & Hahn, P. J. Network perspectives on the mechanisms of deep brain stimulation. *Neurobiology of disease*. 2010; 38 (3): 329-337.
- McIntyre, C. C., Savasta, M., Kerkerian-Le Goff, L., & Vitek, J. L. Uncovering the mechanism (s) of action of deep brain stimulation: Activation, inhibition, or both. *Clinical neurophysiology*. 2004; 115 (6): 1239-1248.
- Mehanna, R., & Lai, E. C. Deep brain stimulation in parkinson's disease. *Translational neurodegeneration*. 2013; 2 (1): 22-32.

- Meyer-Lindenberg, A., Kohn, P. D., Kolachana, B., Kippenhan, S., McInerney-Leo, A., Nussbaum, R., Weinberger, D. R., & Berman, K. F. Midbrain dopamine and prefrontal function in humans: Interaction and modulation by comt genotype. *Nature neuroscience*. 2005; 8 (5): 594-596.
- Minatohara, K., Akiyoshi, M., & Okuno, H. Role of immediate-early genes in synaptic plasticity and neuronal ensembles underlying the memory trace. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2016; 8 (78), 1-11.
- Mogilner, A., Benabid, A. L., & Rezai, A. Brain stimulation: Current applications and future prospects. *Thalamus & Related Systems*. 2001; 1 (3): 255-267.
- Morelli, M., Porceddu, M. L., & Di Chiara, G. Lesions of substantia nigra by kainic acid: Effects on apomorphine-induced stereotyped behaviour. *Brain Research*. 1980; 191 (1): 67-78.
- Morgan, J. I., Cohen, D. R., Hempstead, J. L., & Curran, T. Mapping patterns of c-fos expression in the central nervous system after seizure. *Science*. 1987; 237 (4811): 192-197.
- Nakano, K., Kayahara, T., Tsutsumi, T., & Ushiro, H. Neural circuits and functional organization of the striatum. *Journal of neurology*. 2000; 247 (5): V1-V15.
- Nevet, A., Morris, G., Saban, G., Fainstein, N., & Bergman, H. Discharge rate of substantia nigra pars reticulata neurons is reduced in non-parkinsonian monkeys with apomorphine-induced orofacial dyskinesia. *Journal of neurophysiology*. 2004; 92 (4): 1973-1981.
- Okuma, Y. Freezing of gait in parkinson's disease. *Journal of neurology*. 2006; 253 (7): 27-32.
- Okuno, H., Akashi, K., Ishii, Y., Yagishita-Kyo, N., Suzuki, K., Nonaka, M., Kawashima, T., Fujii, H., Takemoto-Kimura, S., & Abe, M. Inverse synaptic tagging of inactive synapses via dynamic interaction of arc/arg3.1 with camkii β . *Cell*. 2012; 149 (4): 886-898.
- Olanow, C. W., Bartus, R. T., Volpicelli-Daley, L. A., & Kordower, J. H. Trophic factors for parkinson's disease: To live or let die. *Movement Disorders*. 2015; 30 (13): 1715-1724.
- Pahwa, R., Factor, S., Lyons, K., Ondo, W., Gronseth, G., & Bronte-Stewart, H. Treatment of parkinson disease with motor fluctuation and dyskinesia: Report of the quality standards subcommittee of the american academy of neurology. *Neurology*. 2006; 66: 983-995.
- Parent, A., & Hazrati, L.-N. Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain research reviews*. 1995; 20 (1): 91-127.
- Parent, A., Sato, F., Wu, Y., Gauthier, J., Lévesque, M., & Parent, M. Organization of the basal ganglia: The importance of axonal collateralization. *Trends in neurosciences*. 2000; 23: S20-S27.
- Parkinson, J. An essay on the shaking palsy. 1817. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*. 2002; 14 (2): 223-236.
- Patterson, S. L., Abel, T., Deuel, T. A., Martin, K. C., Rose, J. C., & Kandel, E. R. Recombinant bdnf rescues deficits in basal synaptic transmission and hippocampal ltp in bdnf knockout mice. *Neuron*. 1996; 16 (6): 1137-1145.
- Paulson, H., & Stern, M. Clinical manifestations of parkinson's disease. Ed: Watts rl, koller wc *movement disorders neurologic principles and practice*, 14: 233-245. 2004.

- Pruunsild, P., Kazantseva, A., Aid, T., Palm, K., & Timmusk, T. Dissecting the human *bdnf* locus: Bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics*. 2007; 90 (3): 397-406.
- Purves, D. *Body and brain: A trophic theory of neural connections*: Harvard University Press; 1988, 993-994.
- Qi, X., Davis, B., Chiang, Y. H., Filichia, E., Barnett, A., Greig, N. H., Hoffer, B., & Luo, Y. Dopaminergic neuron-specific deletion of *p53* gene is neuroprotective in an experimental parkinson's disease model. *Journal of neurochemistry*. 2016; 138 (5): 746-757.
- Ranck Jr, J. B. Which elements are excited in electrical stimulation of mammalian central nervous system: A review. *Brain research*. 1975; 98 (3): 417-440.
- Ren, X., Zhang, T., Gong, X., Hu, G., Ding, W., & Wang, X. Aav2-mediated striatum delivery of human *cdnf* prevents the deterioration of midbrain dopamine neurons in a 6-hydroxydopamine induced parkinsonian rat model. *Experimental neurology*. 2013; 248: 148-156.
- Rinne, U. Early combination of bromocriptine and levodopa in the treatment of parkinson's disease: A 5-year follow-up. *Neurology*. 1987; 37 (5): 826-826.
- Roche, E., Buteau, J., Aniento, I., Reig, J. A., Soria, B., & Prentki, M. Palmitate and oleate induce the immediate-early response genes *c-fos* and *nur-77* in the pancreatic beta-cell line ins-1. *Diabetes*. 1999; 48 (10): 2007-2014.
- Saint-Cyr, J. A., Trépanier, L. L., Kumar, R., Lozano, A. M., & Lang, A. Neuropsychological consequences of chronic bilateral stimulation of the subthalamic nucleus in parkinson's disease. *Brain*. 2000; 123 (10): 2091-2108.
- Saitoh, K., Isa, T., & Takakusaki, K. Nigral gabaergic inhibition upon mesencephalic dopaminergic cell groups in rats. *European Journal of Neuroscience*. 2004; 19 (9): 2399-2409.
- Saryyeva, A., Nakamura, M., Krauss, J. K., & Schwabe, K. C-fos expression after deep brain stimulation of the pedunculopontine tegmental nucleus in the rat 6-hydroxydopamine parkinson model. *Journal of chemical neuroanatomy*. 2011; 42 (3): 210-217.
- Savaş, A., & Akbostanci, M. C. Parkinson hastalığında cerrahi teknik ve tedavinin ana hatları. *Türkiye Klinikleri Journal of Neurology Special Topics*. 2008; 1 (4): 103-108.
- Savitt, J. M., Dawson, V. L., & Dawson, T. M. Diagnosis and treatment of parkinson disease: Molecules to medicine. *The Journal of clinical investigation*. 2006; 116 (7): 1744-1754.
- Shibasaki, H., Fukuyama, H., & Hanakawa, T. Neural control mechanisms for normal versus parkinsonian gait. *Progress in brain research*. 2004; 143: 199-205.
- Siegel, G. J., & Chauhan, N. B. Neurotrophic factors in alzheimer's and parkinson's disease brain. *Brain Research Reviews*. 2000; 33 (2-3): 199-227.
- Skaper, S. D. The neurotrophin family of neurotrophic factors: An overview. *Neurotrophic factors*. 2012: 1-12.
- Snijders, A. H., Takakusaki, K., Debu, B., Lozano, A. M., Krishna, V., Fasano, A., Aziz, T. Z., Papa, S. M., Factor, S. A., & Hallett, M. Physiology of freezing of gait. *Annals of neurology*. 2016; 80 (5): 644-659.

- Spiegel, E. A., Wycis, H. T., Szekely, E. G., & Spuler, H. Some recent studies of the strio-pallidum and the thalamus in relation to extrapyramidal disorders. *Revue canadienne de biologie*. 1961; 20: 351-357.
- Spieles-Engemann, A. L., Steece-Collier, K., Behbehani, M. M., Collier, T. J., Wohlgenant, S. L., Kemp, C. J., Cole-Strauss, A., Levine, N. D., Gombash, S. E., & Thompson, V. B. Subthalamic nucleus stimulation increases brain derived neurotrophic factor in the nigrostriatal system and primary motor cortex. *Journal of Parkinson's disease*. 2011; 1 (1): 123-136.
- Stachowiak, M., Sar, M., Tuominen, R., Jiang, H., An, S., Iadarola, M., Poisner, A., & Hong, J. Stimulation of adrenal medullary cells in vivo and in vitro induces expression of c-fos proto-oncogene. *Oncogene*. 1990; 5 (1): 69-73.
- Tanibuchi, I., Kitano, H., & Jinnai, K. Substantia nigra output to prefrontal cortex via thalamus in monkeys. I. Electrophysiological identification of thalamic relay neurons. *Journal of neurophysiology*. 2009a; 102 (5): 2933-2945.
- Tanibuchi, I., Kitano, H., & Jinnai, K. Substantia nigra output to prefrontal cortex via thalamus in monkeys. II. Activity of thalamic relay neurons in delayed conditional go/no-go discrimination task. *Journal of neurophysiology*. 2009b; 102 (5): 2946-2954.
- Tekin, S., & Cummings, J. L. Frontal-subcortical neuronal circuits and clinical neuropsychiatry: An update. *Journal of psychosomatic research*. 2002; 53 (2): 647-654.
- Tekriwal, A., & Balthus, G. Deep brain stimulation: Expanding applications. *Neurologia medico-chirurgica*. 2015; 55 (12): 861-877.
- Temel, Y., Blokland, A., Ackermans, L., Boon, P., Spincemille, G., & Visser-Vandewalle, V. Improved motor responding but central slowing following bilateral subthalamic stimulation in patients with advanced parkinson disease. *Acta Neurochir (Wien)*. 2004; 146: 865-866.
- Temel, Y., & Visser-Vandewalle, V. Targets for deep brain stimulation in parkinson's disease. *Expert opinion on therapeutic targets*. 2006; 10 (3): 355-362.
- Tepper, J., Martin, L., & Anderson, D. Gaba_A receptor-mediated inhibition of rat substantia nigra dopaminergic neurons by pars reticulata projection neurons. *Journal of Neuroscience*. 1995; 15 (4): 3092-3103.
- Tepper, J. M., & Lee, C. R. Gabaergic control of substantia nigra dopaminergic neurons. *Progress in brain research*. 2007; 160: 189-208.
- Thompson, R. F. *The brain: An introduction to neuroscience*: WH Freeman/Times Books/Henry Holt & Co; 1985, p: 152-175.
- Udupa, K., & Chen, R. The mechanisms of action of deep brain stimulation and ideas for the future development. *Progress in neurobiology*. 2015; 133: 27-49.
- Vitek, J. L. Mechanisms of deep brain stimulation: Excitation or inhibition. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*. 2002; 17 (S3): S69-S72.
- Voogd, J. The human cerebellum. *Journal of chemical neuroanatomy*. 2003; 26 (4): 243-252.
- Voutilainen, M. H., Bäck, S., Peränen, J., Lindholm, P., Raasmaja, A., Männistö, P. T., Saarna, M., & Tuominen, R. K. Chronic infusion of cdfn prevents 6-ohda-induced deficits in a rat model of parkinson's disease. *Experimental neurology*. 2011; 228 (1): 99-108.

- Voutilainen, M. H., Bäck, S., Pörsti, E., Toppinen, L., Lindgren, L., Lindholm, P., Peränen, J., Saarma, M., & Tuominen, R. K. Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor is neurorestorative in rat model of parkinson's disease. *Journal of Neuroscience*. 2009; 29 (30): 9651-9659.
- Weiss, D., Walach, M., Meisner, C., Fritz, M., Scholten, M., Breit, S., Plewnia, C., Bender, B., Gharabaghi, A., & Wächter, T. Nigral stimulation for resistant axial motor impairment in parkinson's disease? A randomized controlled trial. *Brain*. 2013; 136 (7): 2098-2108.
- Wichmann, T., & Kliem, M. A. Neuronal activity in the primate substantia nigra pars reticulata during the performance of simple and memory-guided elbow movements. *Journal of neurophysiology*. 2004; 91 (2): 815-827.
- Windels, F., Carcenac, C., Poupard, A., & Savasta, M. Pallidal origin of gaba release within the substantia nigra pars reticulata during high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *Journal of Neuroscience*. 2005; 25 (20): 5079-5086.
- Windels, F., & Kiyatkin, E. Gabaergic mechanisms in regulating the activity state of substantia nigra pars reticulata neurons. *Neuroscience*. 2006a; 140 (4): 1289-1299.
- Windels, F., & Kiyatkin, E. A. General anesthesia as a factor affecting impulse activity and neuronal responses to putative neurotransmitters. *Brain research*. 2006b; 1086 (1): 104-116.
- Wscieklica, T., Silva, M. S., Lemes, J. A., Melo-Thomas, L., Céspedes, I. C., & Viana, M. B. Deep brain stimulation of the dorsal raphe inhibits avoidance and escape reactions and activates forebrain regions related to the modulation of anxiety/panic. *Behavioural brain research*. 2017; 321: 193-200.
- Yaylalı, F. Kamptokormili İdyopatik parkinson hastalarında paraspinal kas emg ve kantitatif müp analizi sonuçları. 2006, 5-20.
- Yildirim, F. B., Ozsoy, O., Tanrıover, G., Kaya, Y., Ogut, E., Gemici, B., Dilmac, S., Ozkan, A., Agar, A., & Aslan, M. Mechanism of the beneficial effect of melatonin in experimental parkinson's disease. *Neurochemistry international*. 2014; 79: 1-11.
- Yoshii, A., & Constantine-Paton, M. Postsynaptic bdnf-trkb signaling in synapse maturation, plasticity, and disease. *Developmental neurobiology*. 2010; 70 (5): 304-322.
- Zaidel, A., Arkadir, D., Israel, Z., & Bergman, H. Akineto-rigid vs. Tremor syndromes in parkinsonism. *Current opinion in neurology*. 2009; 22 (4): 387-393.