

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL PARKİNSON MODELİNDE SİRİNJİK ASİDİN
KORUYUCU ETKİ MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI**

Özge GÜZELAD

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2020-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL PARKİNSON MODELİNDE SİRİNJİK ASİDİN
KORUYUCU ETKİ MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI**

Özge GÜZELAD

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Fatoş Belgin YILDIRIM

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2019-4783 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2020-ANTALYA

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca yanımda olup beni destekleyen, bilgi birikimi ve tecrübelerini esirgemeyen, içtenliğini ve samimiyetini her zaman hissettiğim sevgili danışman hocam Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Fatoş Belgin YILDIRIM'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Öğrencileri olmaktan mutluluk ve gurur duyduğum Akdeniz Üniversitesi Anatomi Anabilim Dalı ailesinin tüm değerli üyelerine özveri ile aktardıkları bilgi birikimleri ve öğrettikleri tüm değerler için sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Birlikte çalışmaktan onur duyduğum Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Aysel AĞAR'a, tez konumun belirlenmesi ve şekillenmesinde büyük katkıları olan ve bilgi birikiminden faydalanma fırsatı bulduğum Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mutay AYDIN ASLAN'a, tez çalışmamdaki katkı ve emeklerinden dolayı Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mehmet BÜLBÜL'e, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Eren ÖĞÜT'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam süresince tüm samimiyetleriyle yanımda olan Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlileri Hande PARLAK, Ayşe ÖZKAN, Osman SİNEN'e ve Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Ebru AFŞAR'a tüm katkı ve emeklerinden dolayı teşekkür ederim. Tez çalışmam süresince her konuda katkısı ve emeği olan, karşılaştığım her zorlukta desteğini yanımda hissettiğim Anatomi Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Ege ALKAN'a tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca yanımda olup bana güvenen ve her koşulda beni destekleyerek ileriye gitmemi sağlayan canım aileme üzerimdeki tüm emekleri için sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: 6-hidroksidopamin (6-OHDA) deneysel parkinson modeli oluşturmak için kullanılan yaygın bir kimyasaldır. 6-hidroksidopamin toksisitesine karşı birçok fenolik bileşiğin terapötik etkilerini gösteren çalışmalar olmasına rağmen sirinjik asit (SA)'ın etki mekanizması hakkında yayınlanan çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma ile SA'nın, 6-OHDA ile indüklenen deneysel parkinson modeli üzerindeki etkisinin biyokimyasal, immünofloresan yöntemler ve motor aktivite testleri ile değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Yöntem: *Rattus norvegicus* Wistar albino cinsi erkek erişkin sıçan (250-300 gr), her grupta 15 tane olmak üzere rastgele 5 gruba ayrıldı (n=75). Grup I (Sham), Grup II (Parkinson), Grup III (Sirinjik asit), Grup IV (Sirinjik asit + Parkinson), Grup V (Parkinson + Sirinjik asit) olarak belirlendi. Sirinjik asit (20 mg/kg) uygulaması, her gün oral gavaj yoluyla yapıldı. Deneysel parkinson modeli, 6-OHDA'nın stereotaksik cerrahi ile medial ön beyin bandına enjeksiyonu ile gerçekleştirildi. Tüm gruplara lokomotor aktivite, rotarod ve katatoni testleri yapıldı. Deney sonunda sıçanlar anestezi altına alınarak transkardiyal perfüzyon yöntemi ile biyokimyasal ve immünofloresan analizler için kurban edildi.

Bulgular: Sirinjik asit, 6-OHDA ile indüklenen deneysel parkinson modeli sıçanlarda, substantia nigra (SN)'da azalan dopamin ve tirozin hidroksilaz seviyelerinin anlamlı oranda yükselmesini sağladı ($p<0,001$). Motor aktivite üzerinde koruyucu rol oynadı. Substantia nigra'da total antioksidan kapasitenin istatistiksel olarak anlamlı oranda korunmasını sağladı ($p<0,05$) ve total oksidan kapasiteyi azalttı ($p<0,001$). İndüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu inhibe ederek nitrit ve nitrat seviyelerinin azalmasını sağladı ($p<0,05$).

Sonuç: Bu veriler SA'nın, 6-OHDA ile indüklenen deneysel parkinson modelinde antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleriyle nöroprotektif etki sağlayabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Deneysel parkinson modeli, sirinjik asit, 6-OHDA, iNOS

ABSTRACT

Objective: 6-hydroxydopamine (6-OHDA) is a widely used chemical to create an animal model of Parkinson's disease. Although there are several studies demonstrating the therapeutic effects of many phenolic compounds against 6-OHDA toxicity, there aren't any published studies over the syringic acid (SA) mechanism of action. The present study aimed to evaluate the effect of SA on 6-OHDA-induced parkinson rat model by biochemical analyses, immunofluorescence methods, and motor activity tests.

Method: *Rattus norvegicus* Wistar albino adult male rats (250-300 g) were randomly divided into 5 groups, 15 in each group (n=75). Groups were determined as Group I (Sham), Group II (Syringic acid), Group III (Syringic acid + Parkinson), Group IV (Parkinson + Syringic acid), Group V (Parkinson). Syringic acid (20 mg / kg) was administered daily by oral gavage. The animal model of Parkinson's disease was created by injection of 6-OHDA into the medial forebrain band with stereotaxic surgery. All groups were tested for locomotor activity, rotarod performance test and catatonia test. At the end of the experiment, rats were anesthetized and sacrificed for biochemical and immunofluorescence analysis by transcatheter perfusion method.

Results: Syringic acid significantly increased levels of dopamine and tyrosine hydroxylase in the substantia nigra (SN) of rats, which were induced with 6-OHDA to create Parkinson's rat model ($p<0.001$). Syringic acid had a protective effect on motor activity, it significantly increased total antioxidant capacity of SN ($p<0.05$) and reduced total oxidant capacity ($p<0.001$). Syringic acid decreased the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS), and reduced nitrite and nitrate levels ($p<0.05$).

Conclusion: These data conclude that SA has neuroprotective outcome due to its antioxidant and anti-inflammatory effects in 6-OHDA-induced Parkinson's rat model.

Key words: Parkinson's model, syringic acid, 6-OHDA, iNOS

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Parkinson Hastalığının Tarihçesi	3
2.2. Parkinson Hastalığının Epidemiyolojisi	4
2.3. Parkinson Hastalığının Etiyolojisi	4
2.3.1. Genetik Faktörler	4
2.3.2. Çevresel Faktörler	4
2.4. Parkinson Hastalığının Anatomik Mekanizması	5
2.5. Parkinson Hastalığı ve Dopaminerjik Mekanizmalar	6
2.6. Parkinson Hastalığının Klinik Semptomları	9
2.6.1. Parkinson Hastalığının Kardinal Bulguları	10
2.7. Parkinson Hastalığının Patogenezi	12
2.7.1. Mitokondriyal Disfonksiyon	12
2.7.2. Oksidatif Stres	13
2.7.3. Eksitotoksisite	15
2.7.4. Nöroinflamasyon	16
2.7.5. Parkinson Hastalığında Hücre Ölümü	17
2.8. Nitrik Oksit Sentaz	18
2.8.1. İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz ve Nitrik Oksit Etkileri	19

2.9.	6-hidroksidopamin (6-OHDA) İle İndüklenen Deneysel Parkinson Modeli	20
2.10.	Fenolik Bileşikler	21
2.10.1.	Sirinjik Asit	22
2.10.2.	Sirinjik Asidin Kimyasal Özellikleri	23
2.10.3.	Sirinjik Asit İçeren Besinler	23
2.10.4.	Sirinjik Asidin Oksidatif Stres Üzerine Etkisi	24
2.10.5.	Sirinjik Asidin Nöroprotektif Etkisi	24
2.10.6.	Sirinjik Asidin Antiinflamatuvar Etkisi	25
3.	GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1.	Deney Grupları ve Yapılan Uygulamalar	26
3.1.1.	Deneysel Parkinson Hastalığı Modelinin Oluşturulması	26
3.1.2.	Sirinjik Asit Uygulaması	27
3.1.3.	Grup I. Sham Grubu	27
3.1.4.	Grup II. Parkinson grubu	28
3.1.5.	Grup III. Sirinjik asit grubu	28
3.1.6.	Grup IV. Sirinjik asit + Parkinson grubu	28
3.1.7.	Grup V. Parkinson + Sirinjik asit grubu	28
3.2.	Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Çıkarılması	28
3.3.	Motor Aktivite Tayini	29
3.3.1.	Lokomotor Aktivite Tayini	29
3.3.2.	Rotarod Testi	29
3.3.3.	Katatoni testi	30
3.4.	Biyokimyasal Parametreler	30
3.4.1.	Kütle Spektrometresi İle Nigral Dopamin Tayini	30
3.4.2.	Nigral İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS) Düzeyinin Belirlenmesi	31
3.4.3.	Nigral Nitrit + Nitrat Düzeyinin Belirlenmesi	31
3.4.4.	Total Antioksidan Kapasite Tayini	32
3.4.5.	Total Oksidan Kapasite Tayini	32

3.5.	Histolojik Parametreler	32
3.5.1.	İmmünofloresan Yöntem	32
3.6.	İstatistiksel Analiz	33
4.	BULGULAR	34
4.1.	Motor Aktivite Testi Sonuçları	34
4.1.1.	Lokomotor Aktivite Testi Sonuçları	34
4.1.2.	Rotarod Testi Sonuçları	35
4.1.3.	Katatonik Testi Sonuçları	35
4.2.	Biyokimyasal Analiz Sonuçları	36
4.2.1.	Kütle Spektrometresi İle Nigral Dopamin Tayini	36
4.2.2.	Nigral İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS/NOS2) Protein Ölçümü Sonuçları	37
4.2.3.	Nigral Nitrit + Nitrat Düzeyinin Belirlenmesi	38
4.2.4.	Total Antioksidan Kapasite Ölçümü Sonuçları	39
4.2.5.	Total Oksidan Kapasite Ölçümü Sonuçları	39
4.3.	Histolojik Analiz Sonuçları	40
4.3.1.	Tirozin Hidroksilaz (TH) Pozitif Hücre Sayısı	40
4.3.2.	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS) Pozitif Hücre Sayısı	42
5.	TARTIŞMA	44
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	51
	KAYNAKLAR	53
	ÖZGEÇMİŞ	78

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	Parkinson hastalığının motor semptomları	9
Tablo 2.2.	Parkinson hastalığının motor olmayan semptomları	10
Tablo 3.1.	Deney grupları ve denek sayıları	26
Tablo 4.1.	Substantia nigra dopamin seviyelerinin istatistiksel analizi	37



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Dopaminerjik yollar	6
Şekil 2.2.	Dopamin sentezi ve metabolizması	7
Şekil 2.3.	Parkinson hastalığında mitokondriyal disfonksiyon mekanizması	13
Şekil 2.4.	6-hidroksidopamin (6-OHDA) ile deneysel parkinson modeli oluşturulması	21
Şekil 2.5.	Sirinjik asidin kimyasal formülü	23
Şekil 4.1.	Lokomotor aktivite testi sonuçları	34
Şekil 4.2.	Rotarod testi sonuçları	35
Şekil 4.3.	Katatonî testi sonuçları	36
Şekil 4.4.	Substantia nigra'da dopamin seviyeleri	37
Şekil 4.5.	Substantia nigra'da indüklenabilir nitrik oksit sentaz seviyeleri	38
Şekil 4.6.	Substantia nigra'da nitrit/nitrat seviyeleri	38
Şekil 4.7.	Substantia nigra'nın total antioksidan kapasitesi	39
Şekil 4.8.	Substantia nigra'nın total oksidan kapasitesi	40
Şekil 4.9.	Tirozin hidroksilaz pozitif hücre sayısı	40
Şekil 4.10.	Tirozin hidroksilaz immünoreaktivitesi	41
Şekil 4.11.	İndüklenabilir nitrik oksit sentaz pozitif hücre sayısı	44
Şekil 4.12.	İndüklenabilir nitrik oksit sentaz immünoreaktivitesi	43

SİMGELER ve KISALTMALAR

6-OHDA	: 6-hidroksidopamin
ATP	: Adenozin Trifosfat
ADP	: Adenozin Difosfat
ALDH	: Aldehit Dehidrojenaz
AMPA	: A-Amino-3-Hidroksi-5-Metil-4-Izoksazolepropionik Asit
ATPaz	: Adenozin Trifosfataz
BH4	: Tetrahidrobiyopterin
Ca²⁺	: Kalsiyum
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CAT	: Katalaz
COMT	: Katekol-O-Metiltransferaz
COX-2	: Siklooksijenaz-2
DA	: Dopamin
DAT	: Dopamin Taşıyıcısı
DDC	: DOPA Dekarboksilaz
DJ-1	: Deglycase
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DOPAC	: 3,4-Dihidroksifenilasetik Asit
DOPAL	: 3,4-Dihidroksifenilasetaldehit
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
FAD	: Flavın Adenin Dinükleotid
Fe²⁺	: Demir
FMN	: Flavın Mononükleotid
GABA	: Gamma Aminobutirik Asit
GPCR	: G Proteini Bağımlı Reseptör
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon

H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HNE	: 4-Hidroksinonenal
HVA	: Homovanilik Asit
IFN-γ	: İnterferon- γ
IKβ-α	: Nükleer Faktör Kappa B İnhibitörü
IL-1β	: İnterlökin-1 β
IL-6	: İnterlökin-6
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
LC	: Lewy Cisimciği
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
L-DOPA	: 3,4-Dihidroksi-L-Fenilalanin
LPS	: Lipopolisakkarit
LRRK2	: Lösin Açısından Zengin Tekrar Kinaz
MAO	: Monoamin Oksidaz
MAPK	: Mitojenle Akifleştirilmiş Protein Kinaz
MDA	: Malondialdehit
MFB	: Medial Ön Beyin Bandı
MPP+	: 1-Metil-4-Fenilpiridinyum
MPTP	: 1-Metil-4-Fenil-1, 2, 3, 6-Tetrahidropiridin
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
MYD88	: Myeloid Farklılaşma Birincil Yanıtı
N₂O₃	: Dinitrojen Trioksit
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NFKβ	: Nükleer Faktör Kappa B
NMDA	: N-Metil D-Aspartat
nNOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	: Nitrik Oksit
NO₂	: Nitrojen Dioksit
NO₂⁻	: Nitrit

NO₃⁻	: Nitrat
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NRF1	: Nükleer Solunum Fakörü 1
O₂	: Oksijen
O₂⁻	: Süperoksit Anyonu
ONOO⁻	: Peroksinitrit
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz
PGE2	: Prostaglandin E2
PH	: Parkinson Hastalığı
PINK1	: Pten İle İndüklenen Kinaz
RNR	: Ribonükleotit Redüktaz
RNS	: Reaktif Azot Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
S	: Kükürt
SA	: Sirinjik Asit
SN	: Substantia Nigra
SNCA	: Alfa-Sinüklein
SNpc	: Substantia Nigra Pars Compacta
SOD	: Süperoksit Dismutaz
STAT1	: Transkripsiyon Aktivatörü 1
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit
TH	: Tirozin Hidroksilaz
TLR-4	: Toll Benzeri Reseptör 4
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör- α
UPS	: Ubikitin Proteazom Sistemi
VMAT2	: Veziküler Monoamin Taşıyıcı-2
VPS35	: Vakuolar Protein Sınıflandırması 35
VTA	: Ventral Tegmental Alan

1. GİRİŞ

Parkinson hastalığı (PH), substantia nigra (SN) ve corpus striatumda dopamin (DA) ve dopaminerjik nöronların ilerleyici kaybıyla karakterize, 65 yaş üzeri insanların yaklaşık %1,8'ini etkileyen ikinci yaygın nörodejeneratif hastalıktır (Hornykiewicz, 1986). Parkinson hastalığı patogeneğinde yer alan nöronal ölüm mekanizmalarını açıklamaya yönelik olarak mitokondriyal fonksiyon bozukluğu (Bose ve Beal, 2016), oksidatif stres (Jenner, 2003), eksitotoksisite (Mehta ve ark., 2013) ve nöroinflamasyon (Taylor ve ark., 2013) hakkında pek çok çalışma yapılmıştır. Parkinson hastalığına ait olguların postmortem beyin dokuları incelendiğinde, serbest oksijen radikallerinin artarak oksidatif strese neden olduğu ve lipid, protein ve nükleik asit yapılarına zarar verdiği bildirilmiştir (Cadet ve Brannock, 1998). Parkinson hastalığında indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunun arttığına dair birçok kanıt bulunmaktadır (Huerta ve ark., 2007; Islam, 2017). Nitrik oksit (NO), tiyol, geçiş metalleri, moleküler oksijen ve tirozin kalıntıları gibi çok sayıda diğer biyolojik moleküller ile hızla reaksiyona girerek reaktif azot türlerinin oluşmasına neden olmaktadır. Nitrik oksit ve diğer reaktif azot türleri, lipid peroksidasyonuna, protein modifikasyonuna, enzim aktivasyonunun bozulmasına, DNA hasarı ve baz modifikasyonuna yol açmaktadır (Kang ve ark., 2004). Nitrik oksitin serbest oksijen radikalleriyle reaksiyonu sonucu oluşan peroksinitritin birçok biyolojik molekülü tahrip edebilen ve metal katalizinden bağımsız olarak hidroksil radikallerine ayrılan güçlü bir oksidan olduğu gösterilmiştir (Beckman ve Koppenol, 1996).

Son yıllarda hastalıklarla mücadelede sentetik ajanlar yerine doğal antioksidanların tercih edilmesi, fenolik bileşiklere olan ilginin artmasına neden olmaktadır (Srinivasulu ve ark., 2018). Sirinjik asit (SA) meyve ve sebzelerde sıklıkla bulunan hidroksibenzoik asit türevinde non-flavonoid fenolik bir bileşiktir. Sirinjik asit, antioksidan, antiproliferatif (Kampa ve ark., 2003), antiendotoksik (Wu ve ark., 1997), antikanserojen (Guimarães ve ark., 2007) ve nöroprotektif (Ogut ve ark., 2019) yapısıyla multifarmakolojik özellik sergilemektedir. Sirinjik asidin antiinflamatuvar özellik sergileyerek iNOS ekspresyonunu inhibe ettiği ve NO seviyelerini azalttığı bilinmektedir (Hämäläinen ve ark., 2007; Lee ve ark., 2013). Literatürde SA'nın nörodejeneratif

hastalıklar üzerine etkisini bildiren çalışmalar sınırlıdır (Rekha ve ark., 2014; Guven ve ark., 2015) ve 6-hidroksidopamin (6-OHDA) toksisitesine karşı olası terapötik etkileri bilinmemektedir.

Bu çalışma, 6-OHDA ile indüklenen deneysel parkinson sıçan modeli üzerinde SA'nın etki mekanizmasını araştırmak amacıyla yapılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Parkinson Hastalığının Tarihçesi

İngiliz nörolog James Parkinson 1817 yılında 5 bölümden oluşan 66 sayfalık bir makale yayınlamıştır (Parkinson, 2002). Makalesinde 6 hastanın yaşadığı sendromun nasıl başladığından, belirti ve semptomlarından, bireysel vaka gözlemlerinden bahsetmiş ve karakteristik olarak eğilmiş gövde postürü, istirahat halindeyken ortaya çıkan tremor ve kas kuvvetinde azalma meydana geldiğini bildirmiştir (Parkinson, 2002). James Parkinson bu durumu ‘Shaking Palsy’ olarak adlandırmıştır (Parkinson, 2002). Jean-Martin Charcot, yaptığı çalışmalar sonucu James Parkinson’un gözlemlerine önemli detaylar eklemiş, bradikinezi ve rijiditenin hastalığın temel özellikleri arasında olduğunu bildirmiştir (Charcot, 1877). Ayrıca Charcot bu sendroma ‘Parkinson hastalığı’ adını vererek James Parkinson’u onurlandırmıştır (Charcot, 1877). 1893 yılında Blocq ve Marinesco, SN ile PH arasında ilişki olabileceğini öne sürmüştür (Hostiuc ve ark., 2016). 1912’de Freidrich Heinrich Lewy, nervus vagus’un dorsal motor çekirdeğinde, talamusun lateral çekirdeğinde, globus pallidus’ta, Meynert’in bazal çekirdeğinde intranöronal inklüzyon cisimleri tanımlamıştır (Goedert ve ark., 2013). 1919 yılında Konstantin Nikolaevich Tretiakoff, SN’de benzer cisimler bulmuş ve bunlara ‘Lewy cisimciği’ adını vermiştir (Goedert ve ark., 2013). 1950’li yılların sonlarında Arvid Carlsson, DA antagonisti olan reserpin’e maruz kalan hayvanlarda ilaca bağımlı parkinsonizm geliştiğini bildirmiştir (Carlsson, 2002). Carlsson, Levodopa (L-DOPA)’nın parkinson bulgularını çarpıcı şekilde azalttığını bulmuş ve DA’nın motor hareketlerin kontrolünde yer alan bir nörotransmitter olduğunu ileri sürmüştür (Carlsson, 2002). Bertler ve Rosengren, DA’nın hayvanların bazal gangliyonlarında yaygın olarak bulunduğunu bildirmiştir (Bertler ve Rosengren, 1959). Oxford’da görev yapan Hornykiewicz ise Bertler ve Rosengren’in çalışmasını okumuş ve parkinsonizmi olan altı hastada DA seviyelerinin azaldığını bildirmiştir (Lees ve ark., 2015). DA’nın, PH’li bireyleri iyileştireceğine inanan Hornykiewicz, Viyana’daki en büyük yaşlı bakım evinin doktoru olan Walther Birkmayer’i ikna ederek 20 gönüllü parkinson hastasına L-DOPA vermiş ve tek dozda bile semptomların belirgin şekilde kaybolduğunu bildirmiştir (Lees

ve ark., 2015). Günümüzdeki çalışmalar hâlâ L-DOPA biyoyararlanımını arttırmaya ve DA agonistlerini taklit etmeye yöneliktir (McDonald ve ark., 2018).

2.2. Parkinson Hastalığının Epidemiyolojisi

Parkinson hastalığı, Alzhemier hastalığı'ndan sonra en sık görülen yaşa bağımlı nörodejeneratif hastalıktır (de Lau ve Breteler, 2006). Ortalama başlangıç yaşı 60'tır ve 60 yaş üzeri nüfusun %1'ini, 80 yaş üzeri nüfusun %4'ünü etkilemektedir (A. Samii ve ark., 2004a). Erkeklerde görülme oranı kadınlara göre daha yüksektir (L.V. Kalia ve Lang, 2015). Prevelansı 55 ila 64 yaş arası bireylerde 173 vaka/ 100.000 kişi, 80 yaş üstü bireylerde 1903 vaka/ 100.000 kişi olarak bildirilmiştir (Pringsheim ve ark., 2014). İnsidansı ise 60-69 yaş arası kadınlarda 30,32 vaka/ 100.000 kişi, 80 yaş üstü kadınlarda 103,48 vaka/ 100.000 kişi; 60-69 yaş arası erkeklerde 58,22 vaka/ 100.000 kişi, 80 yaş üstü erkeklerde 258,47 vaka/ 100.000 kişi olarak bildirilmiştir (Hirsch ve ark., 2016).

2.3. Parkinson Hastalığının Etiyolojisi

2.3.1. Genetik Faktörler

Parkinson hastalığının genetik faktörlerine bakıldığında, vakaların yalnızca %10'unun net bir Mendel kalıtım paterni ile ilişkili olduğu görülmektedir (Hardy ve ark., 2009). Yapılan genetik araştırmalar sonucunda monogenik PH formlarına neden olan 'PARK' adı verilen genler ve lokuslar tanımlanmıştır. Bu lokuslar tanımlanma sıralarına göre numaralandırılmıştır. Bunlardan otozomal dominant kalıtımda rol oynayanlar SNCA (PARK1 ve 4), LRRK2 (PARK8) ve VPS35 (PARK17), otozomal resesif kalıttan sorumlu olanlar ise Parkin (PARK2), PINK1 (PARK6), DJ-1 (PARK7), ATPaz tipi 13A2 (ATP13A2/PARK9)'dir (Karimi-Moghadam ve ark., 2018).

2.3.2. Çevresel Faktörler

1983 yılında gerçekleşen bir olayda 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) ile kontamine olmuş ilaçların birkaç kişiye enjekte edilmesinden sonra kişilerde PH bulgularının olduğu fark edilmiş ve dopaminerjik hücrelerinin seçici bir şekilde yıkıma uğradığı bildirilmiştir (de Lau ve Breteler, 2006). Ardından çevresel faktörlerin etkilerinin aydınlatılması adına yapılan çalışmaların sayısı giderek artmıştır (Bellou ve ark., 2016). Tarımsal alanda yaygın olarak kullanılan mantar ve böcek ilaçları, pestisit,

herbisit ve fumigantlara maruz kalan bireylerde PH görülme riskinin arttığı bildirilmiştir (Lai ve ark., 2002). PH'nin kırsal yaşam, kirli su kullanımı ve ağır metallere uzun süreli ya da yüksek dozdaki maruziyet ile pozitif ilişkili; E vitamini, sigara, alkol ve kahve tüketimiyle ise negatif ilişkili olduğu yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir (Martino ve ark., 2017).

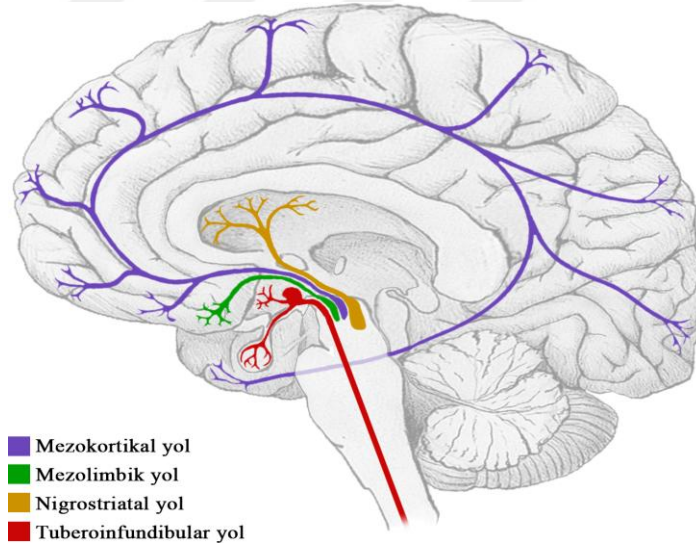
2.4. Parkinson Hastalığının Anatomik Mekanizması

Parkinson hastalığı bazal gangliyonların motor yapılarını içeren ekstrapiramidal sistem bozukluğudur (Schrag ve ark., 2015). Parkinson hastalığı tanılı beyin görüntülemelerinde, makroskopik olarak frontal korteks atrofisi ve ventriküler dilatasyon gibi çoğunlukla dikkat çekici olmayan bulgular yer almaktadır. Parkinson hastalığına ait temel ayırt edici morfolojik değişiklik, neredeyse tüm vakaların truncus encephali transvers kesitlerinde açığa çıkan, substantia nigra pars compacta (SNpc) ve locus coeruleus bölgelerinde koyu pigmentli alanın kaybolmasıdır. Bu pigmentasyon kaybı, SNpc'de dopaminerjik nöromelanin içeren nöronların ve locus coeruleus'ta noradrenerjik nöronların kaybıyla doğrudan ilişkilidir (Dickson, 2012). SNpc'deki hücre ölümü, çoğunlukla nöromelanin içeren dopaminerjik nöronlar grubu, yani A9 nöronları ile sınırlıdır, diğer nöronal ve glial hücre tipleri büyük ölçüde korunmaktadır (Kouli ve ark., 2018). Substantia nigra pars compacta'da nöronal ölüm gerçekleşmeden önce, striatuma çıkıntı yapan akson terminallerinde kayıp olduğu bildirilmiştir ve bu durum PH'de semptomların başlamasından birkaç yıl öncesine dayanan önemli bir klinik öncesi evreyi düşündürmektedir (Kordower ve ark., 2013). Substantia nigra pars compacta ve locus coeruleus haricinde, Meynert'in bazal çekirdeği, nervus vagus'un dorsal motor çekirdeği, nucleus pedunculopontinus, nuclei raphe, hipotalamus, bulbus olfactorius ve birkaç subkortikal çekirdekte yaygın hücre kaybı gözlenmektedir (Giguere ve ark., 2018). Parkinson hastalığında dopaminerjik sistemlerin yanı sıra, kolinerjik, adenosinerjik, glutamaterjik, GABAerjik, noradrenerjik, serotonerjik ve histaminerjik nörotransmitter sistemlerin de etkilendiği bildirilmiştir (L. V. Kalia ve ark., 2013). Parkinson hastalığında motor olmayan semptomların, dopamin replasman tedavilerine yanıt vermemesi, dopaminerjik olmayan sistemlerde meydana gelen dejenerasyon ile açıklanmaktadır. Bununla birlikte, PH'de motor olmayan semptomların altında yatan mekanizma halen tam olarak aydınlatılamamıştır.

Mikroskopik olarak PH'nin ayırt edici morfolojik özelliği, protein, lipid ve diğer hücresel bileşenlerden oluşan hücre içi sitoplazmik agregatlar olarak tanımlanan Lewy cisimciği (LC) varlığıdır (Braak ve ark., 2003). Beyin içerisinde her bölgede eksprese edilen, filamentöz α -sinüklein proteini LC'nin temel yapısını oluşturmaktadır (Goedert ve ark., 2013). Lewy cisimciği, protein geri dönüşümüne katılan ubiquitin proteinlerinin yanlış katlanmış formlarının aşırı miktarda üretilmesiyle oluşmaktadır. Bu proteinlerin birikmesi ubiquitin proteazom sistemi (UPS)'nin bozulmasına yol açmaktadır (Olanow, 2007).

2.5. Parkinson Hastalığı ve Dopaminerjik Mekanizmalar

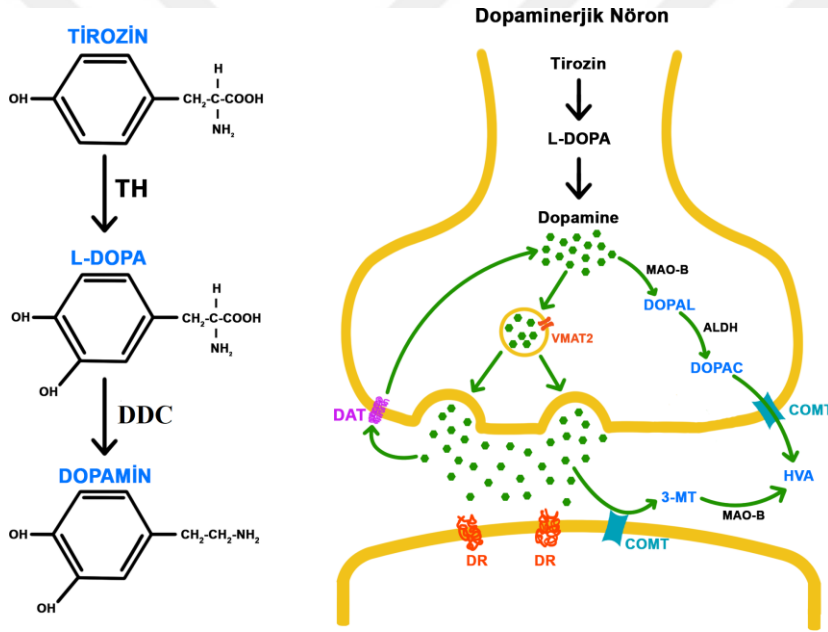
Dopamin, $C_8H_{11}NO_2$ formülünde, 153.181 g/mol ağırlığında, pozitif inotropik aktiviteye sahip monoamin grubuna ait bir bileşiktir (PubChem). Dopaminerjik sistem; motor kontrol, uzaysal hafıza, motivasyon, uyarılma, ödül, bilişsel işlev, uyku düzenlenmesi, beslenme, koku alma, hormonal düzenleme, maternal ve üreme davranışları gibi birçok farklı alanda önemli rol oynar (Klein ve ark., 2019).



Şekil 2.1. Dopaminerjik yollar

Merkezi sinir sistemi içerisinde mezokortikal, mezolimbik, nigrostriatal ve tuberoinfundubular yollar olmak üzere çeşitli dopaminerjik yollar vardır (Şekil 2.1.) (Horvitz, 2000). İnsanlarda, ventral tegmental alan (VTA)'daki dopaminerjik nöronlar, mezokortikal yol ile prefrontal kortekse ve mezolimbik yol ile nucleus accumbens'e

uzanır (Horvitz, 2000). Bu yollar birlikte, ödül ve motivasyonda rol oynayan mezokortikolimbik sistemi oluştururlar. Tuberoinfundibular yol, hipotalamusun nucleus arcuatus ve nucleus periventricularis çekirdeklerindeki dopaminerjik nöronların, hipofiz bezine projekte olmasıyla oluşur ve adenohipofizden prolaktin salgılanmasını düzenler (Grattan, 2015). Substantia nigra'dan striatum'a projekte olan dopaminerjik nöronlar ise nigrostriatal yolu oluşturur ve motor fonksiyon kontrolü ve öğrenme yeteneği üzerinde etkilidir (Hikosaka ve ark., 2002). Substantia nigra pars compacta'da dopaminerjik nöronların progresif dejenerasyonu, PH'nin motor kardinal bulgularının ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Struzyna ve ark., 2018).



Şekil 2.2. Dopamin sentezi ve metabolizması. **ALDH:** aldehit dehidrojenaz, **COMT:** Katekol-O-metiltransferaz, **DAT:** Dopamin taşıyıcı, **DDC:** DOPA dekarboksilaz, **DOPAC:** 3,4-dihidroksifenilasetik asit, **DOPAL:**3,4-dihidroksifenilasetaldehit, **DR:** Dopamin reseptörü, **HVA:** Homovanilik asit, **MAO-B:** Monoamin oksidaz B, **L-DOPA:**3,4-dihidroksi-L-fenilalin, **TH:** Tirozin hidroksilaz, **VMAT2:** veziküler monoamin taşıyıcı 2, **3-MT:** 3-metoksitiramin

Dopamin sentezinin çoğu tirozinden meydana gelir, ancak L-fenilalanin, fenilalanin hidroksilaz ile tirozine dönüştürülebildiğinden, DA dolaylı olarak L-fenilalanin'den de sentezlenebilir (Fernstrom ve Fernstrom, 2007). Tirozin hidroksilaz (TH), tetrahidrobiopterin, oksijen (O_2) ve demir (Fe^{2+}) kofaktörlerini kullanarak tirozini, L-DOPA'ya dönüştürür. L-DOPA daha sonra bir kofaktör olarak piridoksal fosfata sahip aromatik L-amino asit dekarboksilaz (DOPA dekarboksilaz) ile DA'ya dönüştürülebilir

(Christenson ve ark. 1970). Bir diğerk sentez yolu ise tirozin'in, DOPA dekarboksilaz enzimi ile tiramin'e ve ardından Sitokrom P450 2D6 enzimiyle DA'ya dönüşmesiyle gerçekleşir (Bromek ve ark., 2011). Dopaminerjik nöronlarda sentezi takiben, dopamin, veziküler monoamin taşıyıcı 2 (VMAT2) enzim aracılığıyla sinaptik veziküllerin asidik lümenine sekestre edilir ve burada sinaptik yarığa salınana kadar saklanır (Mulvihill, 2019). Sinaptik vezikül lümeninin asidik ortamı DA'yı stabilize eder ve oksidasyonu önler (Guillot ve Miller, 2009). Çoğu durumda, DA salınımı, membran potansiyelindeki değişikliklerin yol açtığı ekzositoz yoluyla gerçekleşir (Eiden ve ark., 2004). Hücre dışı DA seviyeleri iki ana mekanizma ile düzenlenir. Fazık DA iletimi, sinaptik yarıқта hızlı ve geçici bir DA artışı ile sonuçlanan aksiyon potansiyelleri tarafından yönlendirilir. Tonik iletim ise presinaptik etki potansiyelleri olmadan DA salındığında meydana gelir ve diğerk nöronlar ve nörotransmitter geri alımı tarafından düzenlenir (Floresco ve ark., 2003). Böylece, DA farklı G proteini bağımlı reseptör (GPCR)'lere bağlanabilir ve adenilat siklaz'ın farklı şekilde modüle edilmesini sağlayabilir (Beaulieu ve Gainetdinov, 2011). Dopaminin, DA reseptörlerine bağlanması sonucunda postsinaptik hücrede yanıt oluşur (Klein ve ark., 2019). Memelilerde bulunduğu bölgeye göre inhibe edici ya da eksite edici özellik gösteren 5 tip DA reseptörü bulunur (Beaulieu ve ark., 2015). Bütün reseptörler metabotropik G proteiniyle eşleşen reseptörlerdir. Yani bir hücrenin plazma zarına bağlandıklarında etkisini doğrudan göstermeyip, cAMP gibi ikincil haberci moleküller üzerinden hücreyi etkilerler (Beaulieu ve Gainetdinov, 2011). D1 benzeri reseptörler (D1 ve D5) adenilat siklaz'ı aktive ederek hücre içi siklik adenosin monofosfat (cAMP) seviyesinin artmasına ve sodyum kanallarının açılmasını sağlayarak nöronların uyarılmasına neden olur. D2 benzeri reseptörler ise (D2, D3 ve D4) adenilat siklaz'ı inhibe ederek hücre içi cAMP seviyesinin azalmasına ve potasyum kanallarının açılmasıyla nöronların inhibisyonuna neden olur (Beaulieu ve Gainetdinov, 2011). Asidik olmayan ortamda oksidasyona duyarlı hale gelen DA, monoamin oksidaz B (MAO-B) tarafından 3,4-dihidroksifenilasetaldehit (DOPAL)'e ve aldehit dehidrojenaz (ALDH) enzimi tarafından 3,4-dihidroksifenilasetik asit (DOPAC)'e dönüştürülür. Katekol-O-metiltransferaz (COMT) enzimi, DOPAC'ın, dopaminin son ürünü olan homovanilik asit (HVA)'e dönüşmesine neden olur (Eisenhofer ve ark., 2004; J. Chen ve ark., 2011). Dopamin metabolizmasının bir diğerk yolu ise, DA'nın

COMT enzimi ile 3-metoksitiramin'e ve sırasıyla MAO-B, ALDH enzimleri aracılığıyla HVA'ya dönüşmesiyle gerçekleşir (Eisenhofer ve ark., 2004; J. Chen ve ark., 2011). Homovanilik asit biyolojik olarak aktif olmayan bir asittir ve idrar yoluyla dışarı atılır (2018). Enzimatik degradasyonun yanı sıra bir kısım DA da DA taşıyıcıları tarafından sinapstan geri alınıp presinaptik bölgeye taşınmasıyla inaktive edilir, taşınan DA veziküller halinde tekrar depolanır (Giros ve Caron, 1993). Dopamin son ürünleri kan ve beyin omurilik sıvısında ölçülebilir, ancak merkezi sinir sistemi ya da böbrek, bağırsak gibi bazı periferik organlar tarafından üretildikleri için kökenlerini belirlemek zordur (Jose ve ark., 2002; Anlauf ve ark., 2003). Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi patolojilerde HVA ve 3-metoksitiramin miktarları hastalık ilerlemesi ile ilişkilidir. Bu nedenle, bu bileşenler yararlı biyobelirteçler olabilir, çünkü tanının özgüllüğüne katkıda bulunabilirler (Stefani ve ark., 2017).

2.6. Parkinson Hastalığının Klinik Semptomları

1950'lerin sonunda yapılan araştırmalar sonucunda, motor semptomların ana nedeninin striatal DA kaybı olduğu; motor olmayan semptomların ise glutamerjik, kolinerjik, serotonerjik ve adrenerjik sistemler ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (DeMaagd ve Philip, 2015). Parkinson hastalığının ilk ve en belirgin belirtileri motor fonksiyon bozukluklarıdır (DeMaagd ve Philip, 2015). İstirahat tremoru, bradikinezi, rijidite ve postural instabilite, PH'nin kardinal bulgularını oluşturan motor semptomlardır (Tablo 2.1.) (Hess ve Hallett, 2017). Otonom fonksiyon bozukluğu, duyuşsal anomaliler, bilişsel ve nörodavranışsal anomaliler ve uyku bozukluğu ise hastalığın motor olmayan semptomlarını oluşturur (Tablo 2.2.) (Pandya ve ark., 2008).

Tablo 2.1. Parkinson hastalığının motor semptomları

Motor Semptomlar	
İstirahat tremoru	Dizartri
Bradikinezi	Distoni
Hipokinezi	Uzuv-hareket apraksisi
Akinezi	Paradoksal kinezi
Rijidite	Festinasyon
Postural instabilite	Yürümede donmalar

Tablo 2.2. Parkinson hastalığının motor olmayan semptomları

Motor Olmayan Semptomlar	
<u>Otonom Fonksiyon</u>	<u>Bilişsel-Nörodavranışsal</u>
Ortostatik hipotansiyon	Depresyon
Termoregülasyon bozukluğu	Apati
Salya akması	Anksiyete
Disfaji	Demans
Konstipasyon / üriner disfonksiyon	Dürtüsel Davranış Bozukluğu
Cinsel işlev bozukluğu	Psikoz
<u>Duyusal</u>	<u>Uyku</u>
Ağrı	Gündüz uyku hali
Parestezi	İnsomnia
Görsel problemler	Huzursuz bacak sendromu
Koku alma bozukluğu	Halüsinasyon

2.6.1. Parkinson Hastalığının Kardinal Bulguları

Tremor

Parkinson hastalığında karakteristik olarak 3-5 Hz'lik distal istirahat tremoru görülmektedir (Ali Samii ve ark., 2004b). İstirahat tremoru başlangıçta aralıklıdır ve sadece stresli durumlarda ya da hastadan bilişsel bir görev beklendiğinde ortaya çıkar (FAHN, 2003). Hasta hareket etmeye başladığında veya uyku durumundayken ise azalır ya da kaybolur (DeMaagd ve Philip, 2015). Tremor çoğunlukla tek taraflıdır ve ekstremitelerin distal kısımlarında belirgindir. Parkinson hastalığı olan bireylerde yalnızca istirahat tremoru ya da yalnızca hareketle ortaya çıkan tremor görülebilirken, her ikisi aynı anda da görülebilir. Tremor görülen PH'li bireylerin oranının, klinikte %79 ile %90 arasında, otopsi ile kanıtlanmış çalışmalarda ise %76 ile %100 arasında değiştiği bildirilmiştir (Gelb ve ark., 1999).

Bradikinezi

Bradikinezi, genel olarak hareketlerin yavaşlaması anlamına gelmektedir ve PH'nin en karakteristik bulgusudur (D. Grubli ve ark., 2012b). Bazal çekirdek bozukluklarının ayırt edici özelliğidir ve hareketin planlanması, başlatılması, devam ettirilmesi, sıralı ve eş

zamanlı görevlerin gerçekleştirilmesi ile ilgili zorlukları kapsar (Jankovic, 2008). Yürüme esnasında kol ve bacak salınımlarının azalması, yüz mimiklerinin azalması ile maske yüz, azalmış göz kırpma hızı, el becerilerinin azalması, salya akması, monotonik ve hipofonik dizartri ve mikrografi (anormal derecede küçük ve sıkışık el yazısı) gibi belirtilerle kendini gösterir (Weintraub ve ark., 2008).

Rijidite

Rijidite, artmış kas tonusu ve pasif harekete karşı gösterilen direnç bulguları ile kendini gösterir (DeMaagd ve Philip, 2015). Parkinson hastalığında rijidite ‘kurşun boru rijiditesi’ olarak bilinen homojen bir sertlik veya ‘dişli çark rijiditesi’ olarak bilinen sarsıntılı bir sertlik şeklinde olabilir (A. Samii ve ark., 2004a). Parkinson hastalığının erken evrelerinde rijidite genellikle asimetriktir ve yüz ve ekstremitelerden önce boyun ve omuz kaslarını etkileme eğilimindedir. Rijidite ile ağrı arasında ilişki vardır ve ağrılı omuz PH’nin en sık görülen ilk belirtilerindendir. Ancak genellikle artrit, bursit, rotator manşet yaralanması gibi yanlış teşhisler konulmaktadır (Riley ve ark., 1989). Hastalığın ilerlemesi ile birlikte rijidite tüm vücudu etkileyerek hareket kabiliyetinin azalmasına neden olmaktadır. Hastalar, tipik olarak dar bir kapıdan dönme veya içeri girme gereksinimi ile karşı karşıya kaldıklarında rijidite artmaktadır (Mendonca ve Jog, 2008). Parkinson hastalığında rijiditenin görülme sıklığı sadece birkaç seride açıkça rapor edilmiştir ve bu oranın %89 ile %99 arasında değiştiği bildirilmiştir (Gelb ve ark., 1999).

Postural İnstabilite

Parkinson hastalığı olan bireylerin yaklaşık %50’sinde, tanı koyulduktan sonraki 5 yıl içinde postural refleksler ve istemli davranışların azalmasıyla postural instabilite meydana gelmektedir (DeMaagd ve Philip, 2015). Hastada önce kol fleksiyonu ve bunu takiben gövde ve boyun fleksiyonu gelişir. Parkinson hastalığı olan birey zamanla ağırlık merkezinin peşinden koşarcasına sık ve hızlı adımlarla ‘festinasyon yürüyüşü’ yapar (David Grabli ve ark., 2012a). Denge kaybı ve düşme riski ile ilişkili olan postural instabilite multifaktöriyel etiyolojiye sahiptir. Hipotalamus, beyin sapı ya da periferik sinir sisteminde meydana gelen nöral dejenerasyon, rijidite ve postural instabilite ile ilişkilidir (DeMaagd ve Philip, 2015). Ortostatik hipotansiyon, yaşa bağlı duyuşal

değişiklikler ve görsel, vestibüler ve propriyoseptif duyu girdisini entegre etme yeteneğinde azalma postural instabiliteye sebep olan diğer nedenler arasındadır (Bloem, 1992).

2.7. Parkinson Hastalığının Patogenezi

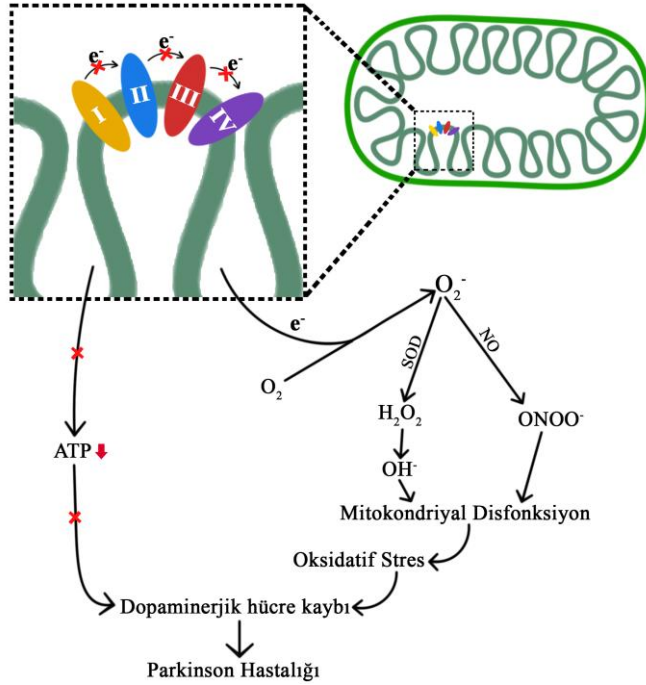
2.7.1. Mitokondriyal Disfonksiyon

Mitokondri, uzunluğu 1-10 mikron arasında değişen, iç ve dış membran, membranlar arası boşluk, matriks ve kristalardan oluşan hücresel bir organeldir (Ho ve ark., 2012). Mitokondriler lipid ve aminoasit metabolizmasında ve kalsiyum homeostazını düzenlemede görev alır (Bose ve Beal, 2016). Oksidatif fosforilasyon yoluyla besin ve oksijen maddesini adenosin trifosfat (ATP)'a dönüştürmek, serbest radikalleri temizlemek ve programlanmış hücre ölümünü kontrol etmek ise en önemli fonksiyonlarındandır (Bose ve Beal, 2016).

Oksidatif fosforilasyonun gerçekleşebilmesi için mitokondrinin iç membranının iki tarafında bir potansiyel fark oluşturulması gerekir. Elektron taşıma sistemi (ETS) bu potansiyel farkı NADH ve FADH₂'nin verdiği yüksek enerjili elektronlardan aldığı enerjiyle, protonları (H⁺) mitokondri matriksinden membranlar arası boşluğa taşıyarak sağlar. ETS beş kompleksten oluşur. Kompleks I (NADH-koenzim Q oksidoredüktaz) NADH'dan, kompleks II (Süksinat-Q oksidoredüktaz) ise FADH₂'den ubiquinon'a elektron transferinden sorumludur. Kompleks 3 (Q-sitokrom c oksidoredüktaz) ubiquinon'dan aldığı elektronları sitokrom c'ye aktarır. Kompleks IV (Sitokrom c oksidaz) elektronları sitokrom a'ya aktarır ve son elektron alıcısı oksijen suya indirgenir. Elektronların taşınması sırasında açığa çıkan enerji kompleks V (ATP Sentaz) tarafından kullanılır ve adenosin difosfat (ADP)'a inorganik fosfat eklenerek ATP sentezi yapılır (Papa ve ark., 2012).

Mitokondri ile PH arasındaki ilk bağlantı PH'ye yol açan bir nörotoksinin mitokondriyal solunumu inhibe ettiğinin keşfedilmesiyle ortaya çıkmıştır (Langston ve ark., 1983). 1980'li yılların başında, uyuşturucu bağımlıları tarafından yasadışı olarak kullanılan ve bu kişilerde PH belirtileri ortaya çıkaran sentetik eroin maddesinin MPTP içerdiği tespit edilmiştir (Langston ve ark., 1983). MPTP kan-beyin bariyerini geçtikten sonra

oksidasyon sonucu 1-metil-4-fenilpiridinyum (MPP^+) oluşmaktadır. MPP^+ dopaminerjik nöronlar tarafından tutulur ve bu nöronların mitokondrisi içerisinde birikerek ETS'nin kompleks I'ini inhibe eder (Fabre ve ark., 1999). α -sinükleinin overekspresyonu, parkin, PINK1 ve DJ-1 mutasyonu ve ATP azalışı Kompleks I inhibisyonuna neden olabilir (Winklhofer ve Haass, 2010). Rotenon, piridaben, trikloretilen ve fenpiroksim gibi toksinler dopaminerjik nörodejenerasyonu indükleyen diğer kompleks I inhibitörleridir (Chaturvedi ve Beal, 2008). Bu toksinler ETS aktivitelerindeki kusurlara (Panov ve ark., 2005), mitokondri hareketlerinin azalmasına (Borland ve ark., 2008), mitokondriyal geçirgenliğin artmasına, reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminin ve nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesinin artmasına neden olmaktadır (Bose ve Beal, 2016).



Şekil 2.3. Parkinson hastalığında mitokondriyal disfonksiyon mekanizması

2.7.2. Oksidatif Stres

Hücreler, metabolik aktiviteleri süresince devamlı olarak serbest radikaller üretir. Serbest radikaller, eşleştirilmemiş elektronlar içeren kimyasal türlerdir (Ho ve ark., 2012). Oldukça reaktiftirler ve nükleik asitlere, lipitlere ve proteinlere zarar verebilirler (Cadet ve Brannock, 1998). Serbest radikaller reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) olarak ikiye ayrılır. ROS ve RNS'ler antioksidan savunma sistemi

tarafından nötralize edilerek organizma oksidatif hasardan korunur. Bu sistem katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimatik ve A, E, C vitaminleri, glutatyon, ubikinon ve flavonoidler gibi çok sayıda enzimatik olmayan antioksidandan oluşur (Urso ve Clarkson, 2003). Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikallerin lehine bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır (Hwang, 2013).

Parkinson hastalığına ait olguların postmortem beyin dokuları incelendiğinde lipit, protein ve deoksiribo nükleik asit (DNA) oksidasyonu üzerindeki değişimler oksidatif hasarı kanıtlar niteliktedir. Serbest radikaller, lipit membranlarına saldırarak lipit peroksidasyonuna ve dolayısıyla lipit hidroperoksit seviyelerinin artmasına neden olmaktadır (Dexter ve ark., 1994). Yoritaka ve ark. yaptıkları immünohistokimyasal çalışmada, SN'deki dopaminerjik hücrelerde 4-hidroksinonenal (HNE) reaktivitesinde artış olduğunu göstermişlerdir (Yoritaka ve ark., 1996). Sıklıkla göz ardı edilen bu değişiklik, HNE'nin çeşitli protein molekülleri ile etkileşime girebilen oldukça reaktif bir lipit peroksidasyon ürünü olması nedeniyle son derece önemlidir. Hücre kültüründe HNE'nin artmış oksidatif veya nitratif stres, bozulmuş mitokondriyal fonksiyon ve azalmış proteazomal aktivite ile ilişkili hücre ölümüne neden olabileceği gösterilmiştir (Hyun ve ark., 2002).

Parkinson hastalığı olgularının SN'lerindeki protein karbonil seviyelerinin artması protein oksidasyonunun arttığını göstermiştir (Alam ve ark., 1997). 8-hidroksiguanin ve 8-hidroksi-deoksiguanozin seviyelerinin artması ise DNA oksidasyonundaki değişimleri işaret etmiştir (Hirano, 2008).

Substantia nigra'daki dopaminerjik nöronların monoaminoksidaz (MAO) enzimi aracılığıyla DA'nın oksidatif deaminasyonunu ve otooksidasyonunu sağlaması sonucu melanin açığa çıkmaktadır. Melanin serbest radikallerin ve reaktif metallerin nöronlardan atılımını sağlayarak toksik metabolitlerin birikimini engellemektedir (Sulzer ve Zecca, 1999). Aynı zamanda ölmekte olan nöronların nöromelanin pigmenti salarak kronik inflamasyonuna neden olmaktadır. Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyonları (O_2^-) ve hidroksiradikaller gibi serbest radikaller bu kronik inflamasyon sonucunda oluşabilir. Ayrıca melaninin bölgesel olarak birikip nöronlardaki serbest

halde bulunan metallerle bağlanarak hücre ölümüne neden olduğu gösterilmiştir (Youdim ve Riederer, 1997).

Glutasyon (GSH), serbest radikalleri temizleyerek oksidatif stres kaynaklı hasara karşı koruma sağlayan tiyol tripeptit grubundan bir antioksidandır. Parkinson hastalığı olgularının postmortem çalışmalarında yaş uyumlu kontrollere kıyasla, SN'de daha düşük GSH seviyeleri (% 40) gösterilmiştir (Sian ve ark., 1994).

2.7.3. Eksitotoksisite

Glutamat merkezi sinir sisteminde en yaygın bulunan ve nöronal uyarımda önemli yeri olan bir nörotransmitterdir. Glutamat reseptörleri; NMDA (N-metil D-aspartat) reseptörleri, AMPA (A-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropiyonik asit) reseptörleri, kainat reseptörleri ve metabotropik reseptörler olarak dört ana grupta incelenir. İlk üç grup iyonotropiktir, yani aktivasyonlarında membran kanallarını açarak iyon geçişine izin verirler. Metabotropik reseptörler ise ikincil haberci sistemi ile çalışan, hedef üzerinde yavaş ve sürekli etki gösteren reseptörlerdir. Glutamat ve benzeri maddelerin iyonotropik reseptörleri aşırı derecede uyarılması sonucunda nöronal hücrelere zarar veren ve ölüme götüren süreç eksitotoksisite olarak ifade edilir (Mehta ve ark., 2013).

Nörodegeneratif hastalıklarda, glutamat veya diğer endojen glutamaterjik agonistlerde bir artış olduğu ve bu artıştan kaynaklanan eksitotoksik yanıtın, doku hasarının derecesini belirlemede önemli olabileceği bildirilmiştir (Yadava ve Nicholls, 2007). Bazal gangliyonlarda, nucleus subthalamicus'tan SNpc'ye projeksiyon glutamaterjiktir ve SNpc glutamaterjik nörotransmitter sistemi yoluyla amigdala'dan innerve edilir (Kita ve Kitai, 1987; Ambrosi ve ark., 2014). Dopaminerjik nöronlar SNpc'de glutamat reseptörlerini eksprese eder (Chatha ve ark., 2000). Substantia nigra pars compacta'da dopaminerjik nöronlar üzerinde glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun PH patofizyolojisinde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Blandini ve ark., 1996). Glutamaterjik eksitotoksisite hücrel kalsiyum homeostazını bozar ve nitrik oksit sentezini, serbest radikallerin oluşumunu ve programlanmış hücre ölümünü aktive eder (Wong ve ark., 2002). Aynı zamanda mitokondriyal membran depolarizasyonu, kaspaz aktivasyonu ve hücrel toksisite gözlenir (Jung ve ark., 2009).

2.7.4. Nöroinflamasyon

Mikroglia merkezi sinir sisteminin gelişiminde, normal işleyişinde, yaşlanması ve yaralanmasında rol oynayan yerleşik nöroimmün ve nöroinflamatuvar hücrelerdir (Taylor ve ark., 2013). Sağlıklı beyinde istirahat fenotipi sergilerken; patojen istilası, yaralanma veya toksik protein birikimi gibi stresler altında aktive olur (Taylor ve ark., 2013). Mikroglia klasik aktivasyonunda, akut inflamasyon ile nöronları yaralanmadan koruyup homeostazi sağlar ve aktivasyon sonunda tekrar istirahat durumuna geçer. Fakat PH'de sürekli mikroglia aktivasyonu ile birlikte kronik inflamasyon görülmektedir (Chao ve ark., 2014).

1988'de McGeer ve arkadaşlarının PH olgularına ait otopsi çalışmalarında, SN'de aktif mikroglia hücrelerine rastlaması, nöroinflamasyonun PH'nin patogenezinde yer aldığına dair ilk kanıtları oluşturmuştur (McGeer ve ark., 1988). Mikroglia hücrelerinin yoğunluğu SN'de oldukça yüksektir ve bu durum SN nöronlarının mikroglia aktivasyonu ile yaralanmaya çok daha duyarlı olacağı ve gliozisin PH'de anlamlı bir rol oynayabileceği fikrini desteklemektedir (W. G. Kim ve ark., 2000). Dopaminerjik nöronlardaki hücre içi glutasyon seviyeleri, SN'nin diğer alanlarından daha düşüktür, bu da DA nöronlarının antioksidan yeteneğini azaltır ve mikroglial aktivasyon ve oksidatif strese duyarlılıklarını artırır (Whitton, 2007).

Mikroglia aktivasyonu, interlökin-1 β (IL-1 β), interferon- γ (IFN- γ), tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) gibi proinflamatuvar ve sitotoksik faktörlerin oluşmasına neden olur (W. G. Kim ve ark., 2000). Bu faktörlerin indüksiyonu iNOS üretimini artırır ve NO ile indüklenen DA nöronal hasarı şiddetlendirir. Parkinson hastalarında SN'de iNOS eksprese eden mikroglial hücrelerin yoğunluğu, kontrol grubuna göre artmıştır (Hunot ve ark., 1996). Proinflamatuvar sitokinler mikroglia aktivasyonunu ve kan-beyin bariyeri infiltrasyonunu hızlandırır, bu da daha fazla yerleşik mikroglia ve perivasküler makrofajların aktivasyonuna yol açarak kronik bir inflamatuvar yanıtla sonuçlanır. Bu inflamatuvar yanıtın devam etmesi, PH'nin ilerlemesine ve nörodejeneratif sürece neden olur. (J. Yan ve ark., 2014).

Hastalarla yapılan geniş bir kohort çalışması, düzenli nonsteroid antiinflatuar ilaç (NSAİİ) kullanan kişilerde PH gelişme riskinin %45'e kadar azaldığını göstermiştir (H. Chen ve ark., 2003).

2.7.5. Parkinson Hastalığında Hücre Ölümü

Apoptoz, PH'li bireylerin postmortem beyin çalışmalarında dopaminerjik nöronlarda DNA parçalanması, kromatin yoğunlaşması ve apoptotik cisimlerin oluşması bulguları ile kanıtlandığı üzere, PH'de nöronal hücre kaybının temel mekanizmasını oluşturmaktadır (Tompkins ve ark., 1997). Parkinson hastalığı tanısı almış bireylerin postmortem çalışmalarında, Bax gibi yüksek seviyelerde proapoptotik proteinler görülmesi, kaspaz-3 aktivasyonunun ve aktif kaspaz-3 ekspresyonunun artması, apoptozun PH'deki rolünü doğrulamaktadır (Mogi ve ark., 2000). Kaspaz inhibitörleri ve Bcl-2 gibi antiapoptotik proteinlerin, deneysel parkinson modellerinde dopaminerjik ölüm mekanizmasını inhibe ettiği bildirilmiştir (Akao ve ark., 2002; Iaccarino ve ark., 2007). Parkinson hastalığında dışsal apoptotik yolun aktif olabileceği yönünde bazı öneriler olsa da, nöronal ölümda baskın mekanizmanın içsel apoptotik yol olduğu düşünülmektedir. Serbest radikal hiperekspresyonu, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres, sitokrom c salınması, ATP tüketiminin artması, kaspaz-9 ve kaspaz-3 aktivasyonunun artması gibi bir dizi olayın, PH'de dopaminerjik nöronların mitokondri aracılı apoptotik (içsel apoptotik yol) ölümünü tetikleyebileceği bildirilmiştir (Fiskum ve ark., 2003).

Parkinson hastalığında nöronal hücre kaybına yol açan bir diğer mekanizma otofajidir (Giordano ve ark., 2014). Otofaji, proteinler ve organeller gibi sitosolik bileşenleri lizozomlara taşıyarak parçalayan katabolik bir süreçtir (Galluzzi ve ark., 2014). Protein birikmesi, organel hasarı, reaktif oksijen türleri, hipoksi ve stres gibi çeşitli uyarıların, otofaji aktivasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Kroemer ve ark., 2010). Aşırı otofaji, sitosolik bileşenlerin aşırı derecede bozulmasına ve nöronal hücre ölümüne yol açabilmektedir (Button ve ark., 2015).

Otofaji yoluyla mitokondrinin seçici degradasyonu olan mitofaji, mitokondriyal homeostazı sürdürmek için anahtar bir süreçtir (J. Liu ve ark., 2019). PINK1 ve Parkin dâhil olmak üzere PH patolojisinde yer alan birçok gen ve protein, aynı zamanda

mitokondriyal kalite kontrol, lizozomal faaliyetler ve mitofajinin düzenlenmesi süreçlerinde görev almaktadır (Verstraeten ve ark., 2015). Gen mutasyonları olan ailesel PH formlarına, genellikle mitofajik yolak bozukluğu ve dejeneratif mitokondriiler eşlik etmektedir (Nakamura ve ark., 2011). Mitofajik yolağın bozulması, hasarlı mitokondri ve yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine yol açarak nöronal ölümüne sebep olmaktadır (J. Liu ve ark., 2019).

2.8. Nitrik Oksit Sentaz

Nitrik oksit, hücre zarlarında serbestçe dolaşan ve belirli bir membran reseptörüne ihtiyaç duymadan çeşitli biyolojik etkilere katılan, hücresel bir sinyal molekülü olarak işlev gören radikal bir gazdır. Nitrik oksit, nörotransmisyon veya vasküler tonus gibi fonksiyonları kontrol eder, gen transkripsiyonunu ve mRNA translasyonunu düzenler ve proteinlerin post-translasyonel modifikasyonlarını üretir (Forstermann ve Sessa, 2012). Nitrik oksit, memelilerde nitrik oksit sentaz (NOS)'ın 3 farklı izoformu olan nöronal NOS (nNOS, NOS I), indüklenbilir NOS (iNOS, NOS II) ve endotelial NOS (eNOS, NOS III) tarafından sentezlenmektedir (Forstermann ve Sessa, 2012). Bütün NOS izoformları, substrat olarak L-arjinin ve moleküler oksijen; kofaktör olarak nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve tetrahidrobiopterin (BH4) kullanarak NO sentezlemektedir (Forstermann ve Sessa, 2012). Nöronal NOS, merkezi ya da periferik sinir hücrelerinde yapısal olarak eksprese edilir ve merkezi sinir sisteminde sinaptik plastisite, kan basıncının merkezi regülasyonu, düz kas gevşemesi ve periferik nitrejik sinirler yoluyla vazodilatasyon gibi fonksiyonlarda görev almaktadır (Knowles ve Moncada, 1994). Endotelial NOS çoğunlukla endotelial hücrelerde eksprese edilir ve kan damarlarının dilatasyonu, kan basıncı kontrolü, çok sayıda başka vazoprotektif ve anti-aterosklerotik etkiye sahiptir (Knowles ve Moncada, 1994). İndüklenbilir NOS, lipopolisakkarit (LPS) ve sitokinler gibi inflamatuvar araçlara yanıt olarak makrofaj, mikroglia, astrosit ve diğer hücre tiplerinde eksprese edilir ve hedef hücre üzerinde sitotoksik etki yaratacak miktarda NO sentezlenmesini sağlar (Pacher ve ark., 2007).

2.8.1. İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz ve Nitrik Oksit Etkileri

İndüklenebilir NOS ekspresyonu normal hücre sürecinde yer almayıp, mikroglia ve astrositlerde patojen, hasar veya hipoksi ile indüklenmektedir. İndüklenebilir NOS bir kez uyarıldığında, daha fazla aktivasyon için herhangi bir gereklilik olmaksızın, kronik olarak orta düzeyde NO üretir ve enzimatik aktivitesi kalsiyum (Ca^{+2}) bağımsızdır (Saha ve Pahan, 2006). Nitrik oksit, protein bağlı demir (Fe^{+2})'e olan afinitesi nedeniyle, katalitik merkezlerinde Fe^{+2} içeren bir dizi anahtar enzimi inhibe edebilir. Bunlar arasında ribonükleotit redüktaz (RNR), mitokondriyal elektron taşınmasında rol oynayan demir-kükürt (Fe-S) kümesine bağlı enzimler (kompleks I ve II) ve sitrik asit döngüsünde görev alan cis-akonitaz enzimi bulunur (Nathan ve Hibbs, 1991). Uyarılmış makrofajlar tarafından üretilen yüksek NO konsantrasyonlarının, doğrudan hedef hücrelerin DNA'sına müdahale ederek zincir kopmalarına ve fragmentasyona neden olabileceği gösterilmiştir (Wink ve ark., 1991). Nitrik oksit'in bu etkilerinin, parazitik mikroorganizmalar ve tümör hücreleri üzerinde, sitostatik ve sitotoksik etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Forstermann ve ark., 1994). Nitrik oksit, sadece istenmeyen mikroplar, parazitler veya tümör hücreleri için toksik olmakla kalmaz, aynı zamanda sağlıklı hücrelere de zarar verebilir (Brown, 2010).

Hücre kültüründe aktif mikroglia ve astrositlerin, nöronal ölüme sebep olarak, nörodejeneratif süreçte etkili olduğu mekanizmalar tanımlanmıştır. Bu mekanizmalar, mikroglia'da fagosit NADPH oksidazın aktivasyonunu ve glia'da iNOS ekspresyonunu içermektedir (Forstermann ve Sessa, 2012). İndüklenebilir NOS, tarafından sentezlenen NO, tiyol, geçiş metalleri, moleküler oksijen ve tirozin kalıntıları gibi çok sayıda diğer biyolojik moleküller ile reaksiyona girebilir. Nitrik oksit'in bu reaksiyonu, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) gibi zararsız oksitlenmiş bileşiklerden, nitrozonyum (NO^+), peroksinitrit (ONOO^-), S-nitrosotiol, dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve nitrojen dioksit (NO_2) gibi RNS oluşmasına neden olmaktadır (Kang ve ark., 2004). Nitrik oksit ve diğer RNS, lipid peroksidasyonuna, protein modifikasyonuna, enzim aktivasyonunun bozulmasına, DNA hasarı ve baz modifikasyonuna yol açmaktadır (Kang ve ark., 2004). Nöronal hücreler için güçlü bir oksidan ve sitotoksik bir modülatör olan peroksinitrit, mitokondriyal kompleks I, II, IV ve V'i oksitleyerek, mitokondriyal solunumu geri dönüşümü olmayan bir şekilde inhibe edebilir. Mitokondriyal membran potansiyelinin ve hücre içi sinyal

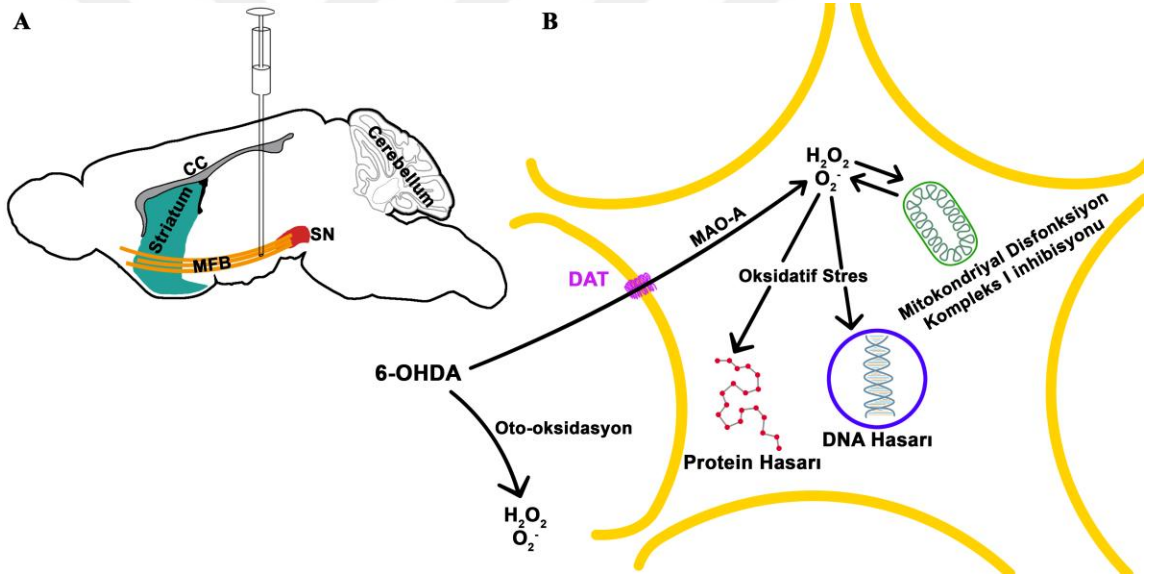
kaskadının bozulması, sitokrom C salınımı ile kaspaz aktivasyonu yoluyla apoptotik nöron ölümünü tetikleyebilir (Kang ve ark., 2004).

Parkinson hastalığında iNOS ekspresyonunun arttığına dair birçok kanıt bulunmaktadır (Pannu ve Singh, 2006; Huerta ve ark., 2007; Islam, 2017). 6-OHDA ile indüklenen deneysel Parkinson modelinde iNOS inhibitörlerinin nöroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir. (Broom ve ark., 2011). Parkinson hastalığı olan bireylerin postmortem çalışmalarında, peroksinitrit aracılı oksidatif ve nitrosatif stres bildirilmiştir (Torreilles ve ark., 1999; Ebadi ve Sharma, 2003; Ebadi ve ark., 2005). Peroksinitritin, DA biyosentezinde başlangıç ve hız sınırlayıcı enzim olan TH'nin nitrasyonunu indükleyerek, enzim aktivitesinin inhibisyonuna ve DA sentezinde başarısızlığa neden olabileceği gösterilmiştir (Ara ve ark., 1998). Parkinson hastalığı olan bireylerin polimorfonükleer hücrelerinde ve LC'de artmış nitrotirozin birikimi bulunmuştur (Gatto ve ark., 2000).

2.9. 6-hidroksidopamin (6-OHDA) İle İndüklenen Deneysel Parkinson Modeli

Parkinson hastalığındaki nörodejenerasyonu değerlendirmek için, oksidatif stres, nöroinflamasyon ve hücre ölümü gibi PH'de ortaya çıkan temel hücresel süreçler başlatan deneysel hayvan modelleri kullanılmıştır (Gubellini ve Kachidian, 2015). Bunlardan en yaygın olanları MPTP ve 6-OHDA'dır. 1968'de Ungerstedt, SN içerisine 6-OHDA enjeksiyonu sonrasında nigrostriatal dopaminerjik sistemde dejenerasyon meydana geldiğini bildirmiş ve ilk deneysel Parkinson modelini bulmuştur (Ungerstedt, 1968). 6-hidroksidopamin, SNpc'nın dopaminerjik nöronlarını seçiciliği nedeniyle nigrostriatal sistemin nörodejenerasyonunu indüklemek için en sık kullanılan toksindir (Hernandez-Baltazar ve ark., 2017). 6-hidroksidopamin, toksinleri dopaminerjik nöronlar içinde taşıyan dopamin taşıyıcısı (DAT) için yüksek afiniteli bir DA analogudur (Blandini ve Armentero, 2012). Toksin kan-beyin bariyerini geçemediği için intraserebral enjeksiyon ile SN, striatum veya medial ön beyin bandı (MFB)'na uygulanmaktadır (Hernandez-Baltazar ve ark., 2017). Enjeksiyon sonrasında nigrostriatal yolakta büyük bir dejenerasyon meydana gelmekte ve deneysel parkinson hayvan modellerinde elde edilebilen en yüksek seviyede (%90-%100) SN'de ve striatuma DA tükenmesi sağlanmaktadır (Blandini ve Armentero, 2012). 6-

hidroksidopamin'in etki mekanizması büyük ölçüde prooksidan etkisiyle ilişkilidir. 6-hidroksidopamin, nörona girdikten sonra sitozolde birikerek oksidasyona uğrar ve yüksek oranda hidrojen peroksit (H_2O_2) açığa çıkmasını sağlar. Ek bir mekanizma olarak, mitokondride birikerek kompleks I aktivasyonunun inhibe olmasına neden olur (Schober, 2004). Dopamin sentezinin hız sınırlayıcı enzimi olan TH, dopaminerjik fenotiplerin belirlenmesinde işaretleyici görevindedir. 6-hidroksidopamin'in TH seviyelerini büyük ölçüde azaltması, SNpc'deki dopaminerjik nöronların ölümüne neden olduğunu göstermektedir (Blandini ve ark., 2007). 6-hidroksidopamin ile yapılan çalışmalar sonucunda, hücre iskeleti bütünlüğünün bozulması apoptoz ile hücre ölümü gerçekleştiğini kanıtlamaktadır (Blandini ve Armentero, 2012).



Şekil 2.4. 6-hidroksidopamin (6-OHDA) ile deneysel parkinson modeli oluşturulması. **A.** Stereotaksi cerrahisinde girişim yapılan bölge. **B.** 6-OHDA'nın hücre içi ve hücre dışı ortamdaki etki mekanizması. **CC:** Corpus callosum, **DAT:** Dopamin taşıyıcı **DNA:** Deoksiribo nükleik asit, **H_2O_2 :** Hidrojen peroksit, **MAO-A:** Monoamin oksidaz A, **MFB:** Medial ön beyin bandı, **O_2^- :** Süper oksit radikali, **SN:** Substantia nigra

2.10. Fenolik Bileşikler

Son yıllarda sentetik ajanlar yerine doğal antioksidanların tercih edilmesi, fenolik bileşiklere olan ilginin artmasına neden olmaktadır (Srinivasulu ve ark., 2018). Fenolik bileşikler, en az bir aromatik halka ve hidroksil grup içeren aromatik bileşiklerdir. Bu bileşikler, oksidatif stresi baskılama ve biyolojik sistemlerde üretilen serbest radikalleri temizleme eğilimindedir (de la Rosa ve ark., 2019). Fenolik bileşikler, yapısal

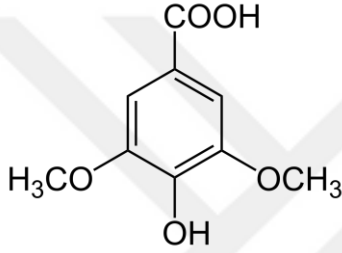
çeşitliliklerinden dolayı, indirgeyici ajanlar, metal şelatörler, serbest radikal temizleyiciler, enzim modülatörleri, protein ve transkripsiyonel faktör düzenleyiciler olarak farklı aktiviteler göstermektedir (Srinivasulu ve ark., 2018). Tüm bu özelliklerinden dolayı fenolik bileşikler, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, karaciğer hastalıkları, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklarda terapötik ajanlar olarak tercih edilmektedir.

2.10.1. Sirinjik Asit

Meyve ve sebzelerde sıklıkla bulunan ve bitkilerdeki şikimik asit yolu ile sentezlenen sirinjik asit (SA), *Isatis indigotica* ve *Radix isatidis*'ten izole edilen doğal bir fitokimyasaldır (S. Kumar, Prahalathan, ve ark., 2012). Sirinjik asit, antioksidan, antiproliferatif (Kampa ve ark., 2003), antiendotoksik (Wu ve ark., 1997) ve antikanserojen (Guimarães ve ark., 2007) yapısıyla multifarmakolojik özellik sergilemektedir. Yapılan çalışmalarda, SA'nın antimikrobiyal, antiinflamatuvar etkileri ve kalp, karaciğer, beyin gibi organların korunmasında yararlı olabileceği gösterilmiştir (J. Y. Liu ve ark., 2006; Ogut ve ark., 2019). Ferulik asit, vanilik asit ve SA gibi fenolik bileşikler içeren *Paspalum scrobiculatum*, antifungal, antibakteriyel, antioksidan ve antidiyabetik özellikler göstermektedir (Hegde ve ark., 2005). *Tamarix aucheriana*'nın bir metaboliti olan SA'nın, kolon kanseri hücrelerinde antikanserojen ve antimitojenik aktiviteler gibi çeşitli fonksiyonlar gösterdiği bildirilmiştir (Abaza ve ark., 2013). Ovaryumları alınmış farelerle yapılan çalışmada, SA uygulaması, kemik rezorpsiyonuna karşı güçlü terapötik etkiler göstermiştir (Tanaka ve ark., 2017). Sirinjik hidrazonların (SA'nın sentetik analogları), ateroskleroz patofizyolojisinde, oksidatif ve karbonil stresi önlediği bildirilmiştir (Belkheiri ve ark., 2010). Sirinjik asidin, kronik karaciğer hasarı olan farelerle yapılan çalışmada hepatoprotektif etkileri (Itoh ve ark., 2009), subkronik deltametrin hasarına karşı hipokampüste antioksidan, antiapoptotik etkisi ve CA1/3 piramidal hücrelerdeki nöroprotektif etkisi (Ogut ve ark., 2019) ve serebral iskemi oluşturulan sıçanlarda nöroprotektif etkileri (I. H. Kim ve ark., 2013) olduğu gösterilmiştir. Rekha ve ark, MPTP indükleyerek oluşturdukları deneysel parkinson modelinde, SA uygulamasının TH, VMAT2, DAT gibi nörokimyasal enzimleri arttırdığını ve inflamatuvar protein miktarını azalttığını bildirmişlerdir (Rekha ve ark., 2014).

2.10.2. Sirinjik Asidin Kimyasal Özellikleri

Sirinjik asit, $C_9H_{10}O_5$ formülüne sahip, 198.17 g/mol ağırlığında, 1.34 g/cm³ yoğunluğunda hidroksibenzoik asit türevinde non-flavonoid fenolik bir bileşiktir (PubChem). Sirinjik asit, iki OCH_3 grubu, bir OH grubu ve bir $COOH$ grubu ile bağlantılı tek bir benzen halkasından oluşur. Kaynama noktası 760 mmHg'de 379,5 °C, erime noktası ise 205-209 °C'dir. Sirinjik asit, 4-hidroksi-3,5-dimetoksibenzoik asit veya 3,5-dimetoksi-4-hidroksibenzoik asit olarak da bilinir (Srinivasulu ve ark., 2018).



Şekil 2.5. Sirinjik asidin kimyasal formülü

2.10.3. Sirinjik Asit İçeren Besinler

Sirinjik asit, çeşitli meyve ve sebzelerde ve bazı mantar türlerinde bulunmaktadır. Sirinjik asit, çiçek ballarında tanımlanmıştır ve balın antioksidan özelliğinin kaynağı olabileceği düşünülmektedir (Paramás ve ark., 2006). Doğal SA türevlerine, üzümde, ahşap fiçılarda bulunan kırmızı şaraplarda, sirke ve bazı damıtılmış alkollü içeceklerde rastlanmaktadır (Matějček ve ark., 2003). Günümüzde tıbbi amaçlı kullanılan begonvil bitkisinin yaprak ve saplarında SA bulunmaktadır (Figuerola ve ark., 2014). Anestezik ve sedatif etki gösteren *Quercus infectoria* bitkisi SA içermektedir (Dar ve Ikram, 1979). Asya ve Afrika ülkelerinde bulunan ve birçok farmakolojik özellik gösteren *Paspalum scrobiculatum* bitki ekstraktında da SA yer almaktadır (Hegde ve ark., 2005). Meme kanseri hücrelerinde antiproliferatif etki gösteren *ardisia crenata* bitki ekstraktında SA ile birlikte 9 farklı bileşik bulunmaktadır (Wang ve ark., 2011). Mısır, yulaf, pirinç, arpa, buğday, çavdar ve sorgum gibi tahıllar bolca SA içermektedir (K.-H. Kim ve ark., 2006). Ayrıca İsviçre pazısı, zeytin, ceviz, hurma, balkabağı ve bazı baharatlarda da bulunmaktadır (Beevi ve ark., 2010). Sirinjik asit, *elaphomyces granulatus*, *inonotus*

obliquus gibi bazı mantar türlerinde de bulunmaktadır (Stanikunaite ve ark., 2009; Kuriyama ve ark., 2013).

2.10.4. Sirinjik Asidin Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

Oksidatif stres, mitokondriyal solunum zinciri elemanları tarafından aşırı serbest radikal üretilmesi ve antioksidan sistemin üretilen serbest radikalleri ortamdaki temizlemede yetersiz kalması sonucu oluşur (Jenner, 2003). Reaktif oksijen türleri hücre metabolizması sırasında üretilen ve hücrenin fizyolojik ve patolojik sürecine katkıda bulunan serbest radikallerdir (Islam, 2017). Serbest radikaller, doğrudan hücresel bileşenlerle reaksiyona girmelerinin yanı sıra, hücre zarlarının lipid peroksidasyonunu indükler ve bunun sonucunda proteinler üzerinde serbest amino grupları ve tiol kalıntıları ile hızla reaksiyona giren reaktif karbonil bileşiklerinin oluşmasına neden olarak karbonil stres yaratır (Esterbauer ve ark., 1991; Uchida, 2000). Sirinjik asidin ve sentetik analoglarının serbest radikalleri temizleyerek oksidatif ve karbonil stresi önlediği bildirilmiştir (Belkheiri ve ark., 2010; Ogut ve ark., 2019). Ayrıca SA, hücre aracılı düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu ve hücresel NADPH oksidazı inhibe etmektedir (Srinivasulu ve ark., 2018).

2.10.5. Sirinjik Asidin Nöroprotektif Etkisi

Yapılan çalışmalarda, koruyucu ajan olarak kullanılan SA'nın serebral iskeminin neden olduğu nöronal hasarı azalttığı bildirilmiştir (I. H. Kim ve ark., 2013; Guven ve ark., 2015). Sirinjik asidin, SOD ve nükleer solunum faktörü 1 (NRF1) seviyelerini artırarak oksidatif stres oluşumunu azalttığı ve malondialdehit (MDA) seviyelerini azaltarak lipid peroksidasyonu önlediği bildirilmiştir (Guven ve ark., 2015). Sirinjik asit uygulaması, medulla spinalis'in dejenere olmuş motor nöron hücrelerinde Beclin-1 protein miktarını ve kaspaz-3 ekspresyonunu azaltmıştır (M. Tokmak ve ark., 2015a). 20 mg/kg SA-kafeik asit, geçici iskemik hasara karşı hipokampal CA1 bölgesinde glial aktivasyonu inhibe ederek güçlü bir nöroprotektif etki göstermiştir (I. H. Kim ve ark., 2013). Ogut ve ark. sıçanlarda subkronik 25 mg/kg SA tedavisinin hipokampal CA1/3 bölgesinde piramidal hücrelerin dejenerasyonunun inhibisyonu ile nöroprotektif etkisini bildirmişlerdir (Ogut ve ark., 2019). MPTP ile indüklenmiş PH modelinde SA uygulaması, inflamatuvar proteinlerin gen ekspresyonunu azaltırken, TH, DAT ve

VMAT2 gibi nörokimyasalların ekspresyonunu arttırmıştır (Rekha ve ark., 2014). Sirinjik asit, tiyobarbitürik asit (TBARS), GSH ve GPx miktarını azaltmaktadır (Rekha ve ark., 2014).

2.10.6. Sirinjik Asidin Antiinflamatuvar Etkisi

Lökosit, makrofaj ve mast hücreleri gibi immün hücreler tarafından üretilen sinyal molekülleri, inflamasyon süreçlerine aracılık etmektedir. IFN- γ ve bazı mikrobiyal ürünler (LPS vb.) gibi makrofaj stimülatörleri, proinflamatuvar sitokin, prostoglandin E2 (PGE2) ve NO miktarını arttırmaktadır (Taylor ve ark., 2013). İnflamatuvar ajanlara yönelik doğal antioksidanlar, inflamatuvar hastalıkların kontrol altına alınması için terapötik bir stratejidir. Sirinjik asidin *in vivo* ve *in vitro* değerlendirmelerinde antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Lee ve ark., 2013; Ham ve ark., 2016). Sirinjik asit, IFN- γ + LPS ile uyarılmış makrofajlarda iNOS ve siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonunun baskılanmasına, nükleer faktör kappa B inhibitörü (IkB- α), TNF- α , IL-1 β , interlökin-6 (IL-6) inhibisyonuna ve mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) ve sinyal düzenleyici ve transkripsiyon aktivatörü 1 (STAT1) faaliyetinin azalmasına neden olmaktadır (Lee ve ark., 2013). Sirinjik asit, toll benzeri reseptör 4 (TLR-4), myeloid farklılaşma birincil yanıtı (MYD88), nükleer faktör kappa- β (NF-K β), TNF- α , IL-6 gibi inflamatuvar genlerin ekspresyonunu azaltmaktadır (Ham ve ark., 2016).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Deneylerde Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde üretilen, ortalama ağırlıkları 250-300 gr. olan 75 adet *Rattus norvegicus* Wistar albino cinsi erkek erişkin sıçan kullanılmıştır. Tüm denekler, bir kafeste en fazla 4 adet sıçan olacak şekilde polikarbon şeffaf hijyenik kafeslerde, sıcaklık ($21 \pm 2^{\circ}\text{C}$) ve nem ($60 \pm 10\%$) oranının sabitlendiği odalarda, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık siklusunun sağlandığı laboratuvar koşullarında barındırılmıştır. Tüm gruplardaki hayvanlar, deney süresince pelet yem ve musluk suyu ile beslenmiştir. Deney süresince yem ve su alımında kısıtlama yapılmamıştır. Denekler üzerinde yapılacak tüm işlemler Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun değerlendirmesine sunulurak onay alınmıştır (protokol no: 2019.01.05, karar no: 6, sayı: B.30.2.AKD.0.05.07.00/5).

3.1. Deney Grupları ve Yapılan Uygulamalar

Gruplar, her grupta n=15 olacak şekilde rastgele belirlenmiştir. Deney aşağıda tablo ile belirtilen 5 grup üzerinde gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. Deney grupları ve denek sayısı

Deney Grupları	Denek Sayısı
Grup I. Sham Grubu (S)	15
Grup II. Parkinson grubu (P)	15
Grup III. Sirinjik asit grubu (SA)	15
Grup IV. Sirinjik asit + Parkinson grubu (SA+P)	15
Grup V. Parkinson + Sirinjik asit grubu (P+SA)	15

3.1.1. DeneySEL Parkinson Hastalığı Modelinin Oluşturulması

Sıçanlar ketamin (200 mg/kg, CAS:6740-88-1, Ketamin Hydrochloride, Pfizer, ABD) + ksilazin (10 mg/kg, Xylazin Bio %2, Bioveta, Çekya) anestezisi altına alınmış ve cerrahinin gerçekleştirileceği baş üstü bölgesi tıraşlanmıştır. Ardından 37°C 'lik ısı pedi

üzerinde stereotaksik çerçeveye sabitlendikten sonra baş üstü bölgesi batikon (100 ml, CAS 25655-41-8, ADEKA İlaç, Samsun, Türkiye) ve alkolle (70%, CAS 64-17-5, Antalya Alkol Sanayi Ticaret, Antalya, Türkiye) temizlenmiştir. Uygulanan orta hat insizyonunun ardından periost temizlenerek bregma açığa çıkarılmıştır. Medial ön beyin bandına bilateral olarak gerçekleştirilecek lezyon cerrahisi için, bregma referans alınarak elde edilen koordinatlarda (2.2 mm anteroposterior; -1.5 mm mediolateral; -8 mm dorsoventral) (Paxinos ve ark., 1985) 1 mm çapında konik uç takılı stereotaksik dremel yardımıyla kafatasına iki adet delik açılmıştır. Medial ön beyin bandına %0,1'lik askorbik asit içeren serum fizyolojik (0,9% NaCl, Polifarma İlaç, Tekirdağ, Türkiye) içinde çözülerek hazırlanan 6-OHDA nörotoksini (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, ABD) (12 µg/µl), 3µl hacimde ve 1µl/dk hızda Hamilton şırıngası (Hamilton™ Company, Reno, NV) aracılığıyla enjekte edilmiştir. Nörotoksinin daha iyi difüze olabilmesi için Hamilton şırıngası enjeksiyon sonrasında 3 dakika bölge içerisinde bekletildikten sonra geri çekilmiştir. Sham grubu sıçanlarda aynı işlem 6-OHDA yerine, çözücüsü enjekte edilerek uygulanmıştır. Enjeksiyon işleminin ardından cilt 5.0 ipek (JinHuan Medical Products, Shangai, Çin) sütür ile kapatılarak sıçanlar kendi kafeslerinde barındırılmaya devam edilmiştir.

3.1.2. Sirinjik Asit Uygulaması

Sirinjik asit çözeltisi, 20 mg/kg (Rekha ve ark., 2014) SA (CAS 530-57-4, Syringic acid $\geq$ 98%, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, California, ABD)'nın, serum fizyolojik (0,9% NaCl, Polifarma İlaç, Tekirdağ, Türkiye) içerisinde çözündürülmesiyle (Mirza ve Panchal, 2019) hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti; Sirinjik asit, Sirinjik asit + Parkinson, Parkinson + Sirinjik asit grubundaki sıçanlara günde bir kez oral gavaj yoluyla verilmiştir. Sham grubundaki sıçanlara ise aynı gavaj stresine maruz bırakmak amacıyla, SA'nın çözücüsü olan serum fizyolojik (0,9% NaCl, Polifarma İlaç, Tekirdağ, Türkiye) aynı dozda oral gavaj yoluyla verilmiştir.

3.1.3. Grup I. Sham Grubu

Sham grubundaki sıçanlara 23 gün boyunca oral gavaj yoluyla SA'nın çözücüsü olan serum fizyolojik verilmiştir. 23. gün stereotaksik cerrahi ile MFB'ye bilateral olarak 6-

OHDA'nın çözücüsü enjekte edilmiştir. 7 gün boyunca oral gavaj yoluyla serum fizyolojik verilmeye devam edilmiştir.

3.1.4. Grup II. Parkinson Grubu

Parkinson grubundaki sıçanlarda deneyin 1. günü stereotaksik cerrahi ile deneysel parkinson modeli oluşturulmuş ve 7 gün boyunca hiçbir uygulama yapılmamıştır.

3.1.5. Grup III. Sirinjik Asit Grubu

Sirinjik asit grubundaki sıçanlara 23 gün boyunca oral gavaj yoluyla SA çözeltisi verilmiştir. 23. gün stereotaksik cerrahi ile MFB'ye bilateral olarak 6-OHDA'nın çözücüsü enjekte edilmiş ve 7 gün boyunca SA çözeltisi verilmeye devam edilmiştir.

3.1.6. Grup IV. Sirinjik Asit + Parkinson Grubu

Sirinjik asit + Parkinson grubundaki sıçanlara 23 gün boyunca oral gavaj yoluyla SA çözeltisi verilmiştir. 23. gün stereotaksik cerrahi ile deneysel parkinson modeli oluşturulmuş ve 7 gün boyunca SA çözeltisi verilmeye devam edilmiştir.

3.1.7. Grup V. Parkinson + Sirinjik Asit Grubu

Parkinson + Sirinjik asit grubundaki sıçanlara 23 gün boyunca aynı gavaj stresine maruz bırakmak amacıyla oral gavaj yoluyla SA'nın çözücüsü olan serum fizyolojik verilmiştir. 23. gün stereotaksik cerrahi ile deneysel parkinson modeli oluşturulmuş ve 7 gün boyunca SA çözeltisi verilmeye devam edilmiştir.

3.2. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Çıkarılması

Deney, Parkinson grubu için 7. gün, diğer gruplarda ise 30. gün sonlandırılmıştır. Deneyin son günü tüm deneklerin motor aktivite tayinleri yapılmış ve ardından sakrifikasyon işlemleri için periton içerisine 200 mg/kg ketamin (CAS:6740-88-1, Ketamin Hydrochloride, Pfizer, ABD) + 10 mg/kg ksilazin (Xylazin Bio %2, Bioveta, Çekya) verilmesiyle derin anestezi altına alınmıştır. İmmünofloresan protokol için 100 ml paraformaldehit (%4'lük; pH:7.4) ve 1:1000 oranında SF ile seyreltilmiş 100 ml heparin (Nevparin, GENSENTA, Ankara, Türkiye)'li SF ile, biyokimyasal protokol için ise sadece 1:1000 oranında SF ile seyreltilmiş 100 ml heparin'li SF ile transkardiyal perfüzyon yapılmıştır. Bunun için supin pozisyonda orta hat kesisi yapılarak göğüs

boşluğu ve abdomen açığa çıkarılmıştır. Sol ventrikül içerisine yerleştirilen kanül yardımıyla perfüzyon sıvısı verilmiş ve sağ ventriküle kesi atılarak boşalma sağlanmıştır. Histolojik deneyler için total beyin dokusu paraformaldehit içerisine konularak 1 gece bekletilmiştir. Biyokimyasal deneyler için ise sağ ve sol SN çıkartılarak cryo tüpler içerisine konulmuş ve sonrasında sıvı nitrojen tankına bırakılmıştır. Ardından dokular analiz yapılacak güne kadar -80 °C dolapta saklanmıştır.

3.3. Motor Aktivite Tayini

3.3.1. Lokomotor Aktivite Tayini

Lokomotor aktivite tayini, açık alan aktivite görüntüleyici sistem (MAY 9908 model Aktivite Görüntüleyici Sistem: Commat Ltd, Türkiye) ile yapılmıştır. 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 35 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 hesaplanmaktadır. Eğer deney hayvanının lokasyonu tamamen değişirse bu durum ambulatuar 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. Deneyin sonlandırılacağı gün, tüm parametreleri test etmek için deney hayvanı açık alanın tam ortasına koyulmuş ve 5 dakika boyunca kayıt alınmıştır (Parlak ve ark., 2018).

3.3.2. Rotarod Testi

Rotarod testi, ilk kez 1957 yılında Dunham tarafından, farelerde ve sıçanlarda nörolojik defisitleri test etmek için kullanılmak üzere tanımlanmıştır (Dunham ve Miya, 1957). Fixed-speed rotarod (FSRR) moduyla sabit hızda kullanılan teste, daha sonra accelerating rotarod (ARR) modu eklenmiş ve deney hayvanlarının, hızı giderek artan düzenek üzerinde teste alışmalarına olanak sağlanmıştır (Jones ve Roberts, 1968). Rotarod testi, PH gibi nörodejeneratif hastalıkların deneysel modellerinde motor

aktivitenin ve terapötik strateji etkinliğinin değerlendirmesi için yaygın olarak kullanılan benimsenmiş ve yararlı bir kantitatif testtir (Rozas ve Labandeira Garcia, 1997). Denekler, stereotaksi cerrahisinin hemen öncesindeki 3 ardışık gün boyunca rotarod aletine (Ugo Basile, Biological Research Apparatus, Varese, Italy) alıştırılmıştır. Her gün aynı saatte, deneye başlamadan 30 dakika önce, hayvanlar laboratuvara alınarak çevreye uyum sağlamaları sağlanmış, 5 dakika arayla 3 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. Artan hızlarda 5-40 rpm (dakikada dönme sayısı) ölçüm yapılmış ve rotarod performansı hızlanan çubuk üzerinde geçirilen toplam saniye cinsinden ifade edilmiştir. Hayvanlarda meydana gelebilecek stres ve yorgunluğu azaltmak amacıyla kayıtlar arasında 5 dakika dinlenme periyodu uygulanmıştır.

3.3.3. Katatoni Testi

Katatoni, kemirgenlerde belirgin bir postür bozukluğu ve “donup kalma” şeklinde tanımlanan, testin tipine ve hassasiyetine göre değişen, bir süre deney hayvanının hiç hareket etmeden test ortamına bırakıldığı duruş biçimini koruması ile karakterize bir davranış olup, bu duruş biçiminin korunduğu süre kronometre yardımı ile ölçülerek kaydedilmiştir. Sürenin uzaması, katatoni şiddetinin arttığını göstermektedir. Hayvanlar zeminle 60°lik açı yapan tel bir ızgara yüzeyine bırakılmış, hayvanın en az bir ayağını hareket ettirmesine kadar geçen süre kaydedilmiştir. Her sıçan için test 3 kez tekrarlanmış ve ortalama değer katatoni şiddeti olarak değerlendirilmiştir.

3.4. Biyokimyasal Parametreler

3.4.1. Kütle Spektrometresi İle Nigral Dopamin Tayini

Dopamin standardı, Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO USA) temin edilmiştir. DA, 10 ml'lik bir cam tüp içerisine, 0.01 g bileşik tartılarak hazırlanmıştır. Daha sonra 1 ml % 98-100 formik asit (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO ABD) ve 9 ml LC sınıfı su ilave edilmiştir. Dopamin seviyeleri, daha önce tarif edildiği şekilde (Bulbul ve ark., 2019), tandem kütle spektrometresi (MS/ MS) ile birleştirilmiş ultra hızlı sıvı kromatografisi

(UFLC) kullanılarak optimize edilmiş, çoklu reaksiyon izleme (MRM) yöntemi ile ölçülmüştür. Substantia nigra doku örnekleri, hacminin 20 katı volümünde formik asit çözeltisi (0.1 M) içinde homojenize edilmiş ve homojenatlar, 4° C'de 20 dakika boyunca 18000 g'de santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar toplanmış ve analize kadar -80° C'de saklanmıştır.

3.4.2 Nigral İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS) Düzeyinin Belirlenmesi

Sıçanların SN dokusundaki iNOS seviyeleri, iNOS / NOS2 ELISA kiti (Elabscience, Katalog No: E-EL-R0520, Houston, Texas, ABD) aracılığıyla, üreticinin talimatlarına göre ölçülmüştür. Doku, fosfat tamponlu tuz (PBS) çözeltisi (doku ağırlığı (g): PBS (mL) hacim 1: 9) içinde homojenleştirilmiş ve 4°C'de 5 dakika boyunca 5000 g'de santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar, analiz edilene kadar -80° C'de saklanmıştır. İndüklenebilir NOS standartlarının absorbans değerlerinin standart bir eğrisi, Windows 5.03 sürümü için GraphPad Prism 8.2 (GraphPad Software, Inc., USA) programı kullanılarak iNOS standart konsantrasyonlarının fonksiyonu olarak çizilmiştir. Numunelerdeki iNOS (ng/ml) miktarı, standart eğri yoluyla karşılık gelen absorbans değerlerinden hesaplanmış ve ng/mg doku proteini olarak ifade edilmiştir. Protein konsantrasyonları, standart olarak sıgır serum albümini ile Coomassie Plus reaktifi (Pierce Chemical Company, Rockford, IL) kullanılarak modifiye edilmiş Bradford deneyi ile 595 nm'de ölçülmüştür.

3.4.3. Nigral Nitrit + Nitrat Düzeyinin Belirlenmesi

Nitrit ve nitrat seviyeleri, SN dokusunda nitrit/nitrat kolorimetrik test kiti (Cayman Chemical, Katalog # 780001, AnnArbor, MI, ABD) aracılığıyla üreticinin talimatlarına göre ölçülmüştür. Doku, PBS çözeltisi (doku ağırlığı (g): PBS (mL) hacim 1: 9) içinde homojenize edilmiş ve 4°C' de 10000 g'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar bir ultrafiltrasyon ünitesine aktarılmış ve proteinden arındırmak için 10 kDa'lık filtre içeren ependorf tüpde (Centricon, Millipore Corporation) santrifüj edilmiştir. Dokudaki nitrit/nitrat seviyelerinin analizleri, Greiss reaksiyonu yoluyla gerçekleştirilmiştir. Bilinen nitrat standartlarının absorbans değerlerinin standart bir eğrisi, standart konsantrasyonların bir fonksiyonu olarak çizilmiş ve numunelerdeki nitrit/nitrat (µM) miktarı, standart eğri yoluyla karşılık gelen absorbans değerlerinden hesaplanmıştır.

3.4.4. Total Antioksidan Kapasite Tayini

Doku örnekleri soğuk PBS içinde homojenize edilmiş ve 4° C'de 10000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar, protein tayini ve total antioksidan kapasite analizi için -80° C'de saklanmıştır. Numunelerdeki total antioksidan kapasite, bir deney kiti (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) ile ölçülmüştür. Kullanılan yöntem, 660 nm'de absorbansta azalmaya neden olan prokromojen ABTS çözeltisinin indirgenmesine dayanmaktadır. Numunelerin net absorbans değerleri, bilinen bir değer olan Troloks standardı ile karşılaştırılmış ve sonuçlar gram doku proteini başına mmol Troloks eşdeğeri (mmol Troloks eşdeğeri/g protein) olarak ifade edilmiştir.

3.4.5. Total Oksidan Kapasite Tayini

Doku örnekleri soğuk PBS içinde homojenize edilmiş ve 10000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar protein tayini ve total oksidan kapasite analizi için -80°C'de saklanmıştır. Numunelerdeki total oksidan kapasite, bir deney kiti (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) ile ölçülmüştür. Bu yöntem, ferrik iyonunun oksitlenmesiyle oluşan ferröz iyon çözeltisindeki renk değişiminin, 530nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Numunelerin net absorbans değerleri, hidrojen peroksit (H₂O₂) standardıyla karşılaştırılmış ve sonuçlar, gram doku proteini başına H₂O₂ eşdeğeri (µmol H₂O₂ eşdeğeri/ g protein) olarak ifade edilmiştir.

3.5. Histolojik Parametreler

3.5.1. İmmünofloresan Yöntem

40-50 µm kalınlığındaki alınan frozen (freezing-mikrotom) kesitler PBS çözeltisinde (PBS; pH: 7.2-7.4) toplam 3 kez 10'ar dakika süreyle yıkanmıştır. Kesitler PBS'te yıkandıktan sonra, spesifik olmayan immunoglobulin (Ig) bağlanmalarını önlemek amacıyla bloklama solüsyonu (%10'luk at serumu) ile iki saat muamele edilmiştir. Bloklama solüsyonu uzaklaştırılarak kesitler anti-TH (1:1000, AB113, Abcam, Cambridge, İngiltere) ve anti-iNOS (1:250, PA5-16524, Thermo Fisher Scientific , San Jose , CA , ABD) primer antikörleri ile oda sıcaklığında gece boyu inkübe edilmiştir. Kontrol kesitlerine primer antikör yerine izotip kontroller uygulanmıştır. Kesitler inkübasyon sonunda PBS ile üç defa beşer dakika yıkanmıştır. Daha sonra sırasıyla 90 dakika biyotinlenmiş anti- koyun (1:1000, A21099, Thermo Fisher Scientific) ve anti-

tavşan (1:1000, A21206, Thermo Fisher Scientific) floresan işaretli sekonder antikorlar ile inkübe edilmiş ve 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkamanın ardından kesitler superfrost lamlara alınıp, kapatma medyumunu ile kapatılmıştır. Farklı gruplara ait kesitlerdeki TH ve iNOS immünoreaktiviteleri floresan mikroskopta (Olympus BX43, Hamburg, Almanya) tespit edilip incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.

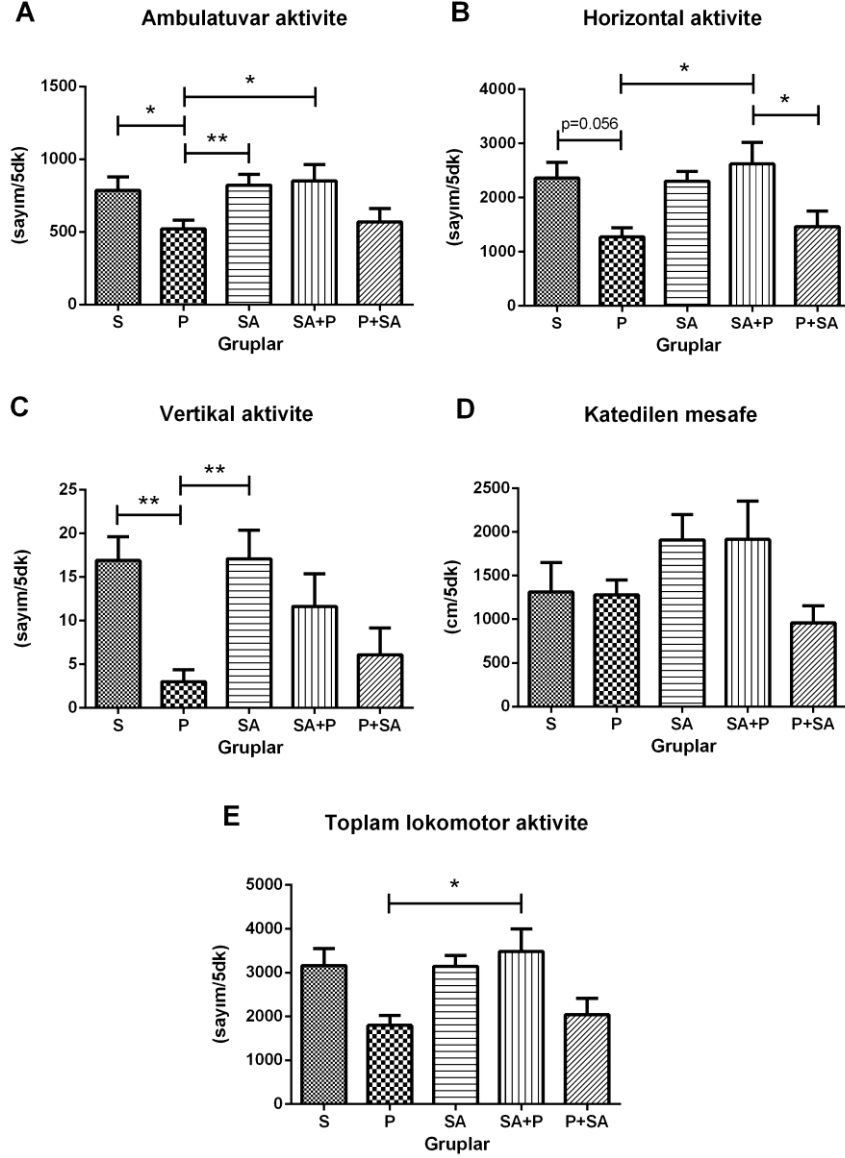
3.6. İstatistiksel Analiz

DeneySEL verilerin analizi ve istatistiksel grafiklerin çizimi için GraphPad Prism 8.2 (GraphPad Software, Inc., USA) ve SPSS 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) programları kullanılmıştır. Verilerin normallik dağılımı için Shapiro-Wilk testi ile analiz edilmiştir. Normallik dağılımına uygun verilerin analizi için One Way ANOVA testi ve çoklu karşılaştırmalar için post hoc Tukey testi kullanılmıştır. Normallik dağılımına uygun olmayan verilerin analizi için Kruskal Wallis testi ve gruplar arası karşılaştırmalar için Mann Whitney U ve post hoc Dunn testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata veya ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Motor Aktivite Testi Sonuçları

4.1.1. Lokomotor Aktivite Testi Sonuçları

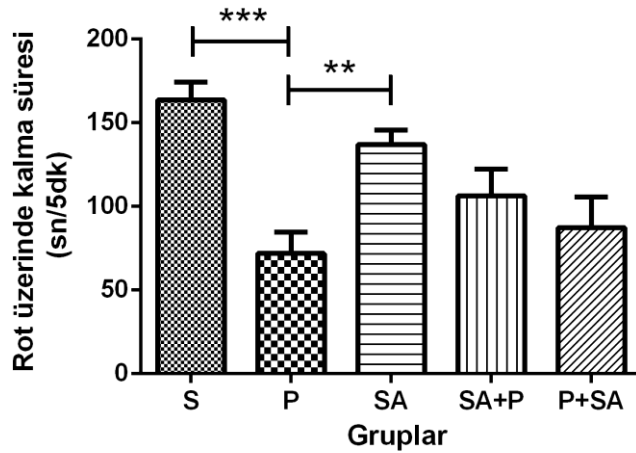


Şekil 4.1. Lokomotor aktivite testi sonuçları. S: Sham, SA: Sirinjik asit, P: Parkinson. **A.** Ambulatuvar aktivite (sayım/5 dk). **B.** Horizontal aktivite (sayım/5 dk). **C.** Vertikal aktivite (sayım/5 dk). **D.** Katedilen mesafe (cm/5 dk). **E.** Toplam lokomotor aktivite (sayım/5 dk). *, $p < 0,05$, **, $p < 0,01$ gruplar arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir.

Parkinson grubunun ambulatuvar ve vertikal aktivitesi, Sham grubuna göre anlamlı oranda azalmıştır (Şekil 1A, $p<0,05^*$, Şekil 4.1.C, $p<0,01^{**}$). Katedilen mesafe değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Şekil 4.1.D, $p>0,05$). Sirinjik asit + Parkinson grubunun ambulatuvar, horizontal ve toplam lokomotor aktivitelerinin Parkinson grubuna göre anlamlı oranda arttığı görülmektedir (Şekil 4.1.A, Şekil 4.1.B, Şekil 4.1.E, $p<0,05^*$).

4.1.2. Rotarod Testi Sonuçları

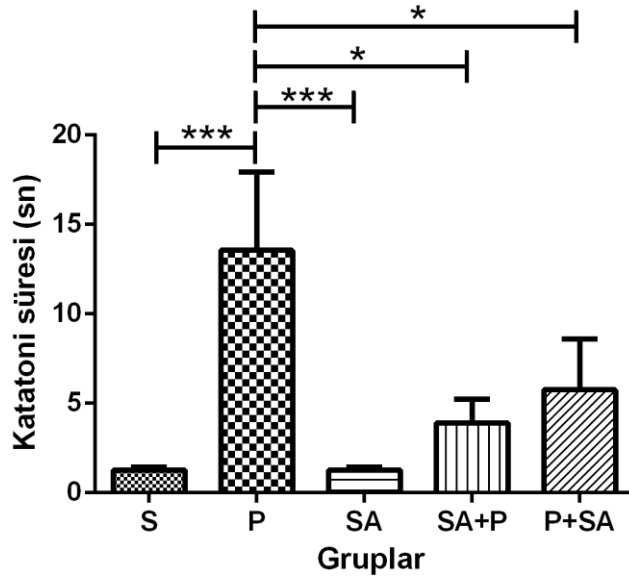
Sıçanların rot üzerinde kalış süreleri değerlendirildiğinde, Parkinson grubunda Sham grubuna kıyasla anlamlı derecede azalma olduğu görülmektedir (Şekil 4.2., $p<0,001^{***}$). Parkinson grubu ile Sirinjik asit grubu arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmaktadır (Şekil 4.2., $p<0,01^{**}$).



Şekil 4.2. Rotarod testi sonuçları. S: Sham, SA: Sirinjik asit, P: Parkinson. **, $p<0,01$, ***, $p<0,001$ gruplar arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir.

4.1.3. Katatoni Testi Sonuçları

Sıçanların tel ızgara üzerinde hareketsiz kalma sürelerine bakıldığında, Parkinson grubunda Sham grubuna kıyasla anlamlı derecede artış olduğu gözlenmektedir (Şekil 4.3., $p<0,001^{***}$). Sirinjik asit + Parkinson grubu ile Parkinson grubu arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır (Şekil 4.3., $p<0,05^*$). Aynı şekilde Parkinson + Sirinjik asit grubu ile Parkinson grubu arasında da anlamlı bir fark bulunmaktadır (Şekil 3, $p<0,05^*$). Bu sonuçlar, SA'nın katatoni süresi üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.3. Katatoni testi sonuçları. S: Sham, SA: Sirinjik asit, P: Parkinson *, $p<0,05$, ***, $p<0,001$ gruplar arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir.

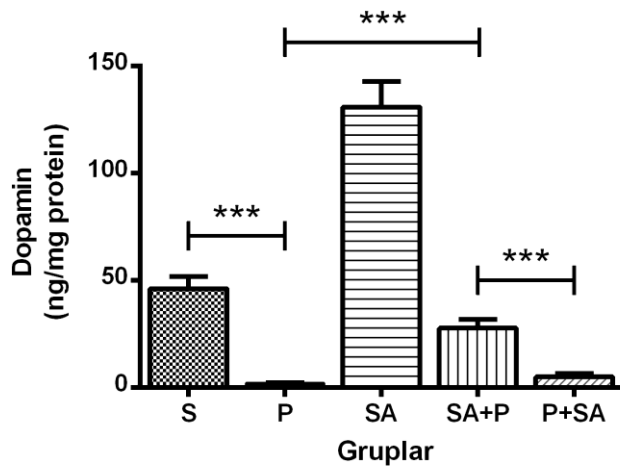
4.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

4.2.1. Kütle Spektrometresi İle Nigral Dopamin Tayini

Sıçanların SN dokusunda dopamin analizi yapıldığında, Sham grubu ile Parkinson grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (Şekil 4.4., $p<0,001^{***}$). Sirinjik asit + Parkinson grubu ile Parkinson grubu arasında da anlamlı bir farklılık vardır (Şekil 4.4., $p<0,001^{***}$). Bu sonuçlar bize SA'nın, PH üzerinde nigral dopamin miktarı açısından, koruyucu bir etki oluşturduğunu göstermektedir. Ayrıca Sham grubu ile Sirinjik asit grubu arasındaki anlamlı fark dikkat çekmektedir (Şekil 4.4., $p<0,001^{***}$). Fakat Parkinson grubu ile Parkinson+ Sirinjik asit grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 4.4., $p>0,05$).

Tablo 4.1. Substantia nigra dopamin seviyelerinin istatistiksel analizi (ng/mg protein). S: Sham, SA: Sirinjik asit, P: Parkinson.

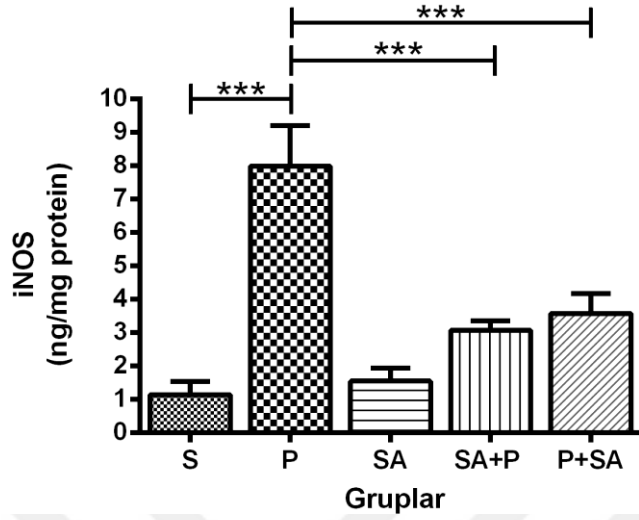
Gruplar	Dopamin (ng/mg protein)	p değeri
S	46,10 ± 5,75	<0,001; P, SA, SA+P, P+SA
SA	130,82 ± 12,01	<0,001; S, P, SA+P, P+SA
SA+P	27,65 ± 4,20	<0,001; S, P, SA, P+SA
P+SA	4,98 ± 1,63	<0,001; S, SA, SA+P
P	1,92 ± 0,44	<0,001; S, SA, SA+P



Şekil 4.4. Substantia nigra'da dopamin seviyeleri (ng/mg protein). S: Sham, SA: Sirinjik asit, P: Parkinson. ***, $p < 0,001$ gruplar arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir.

4.2.2. Nigral İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS/NOS2) Protein Ölçümü Sonuçları

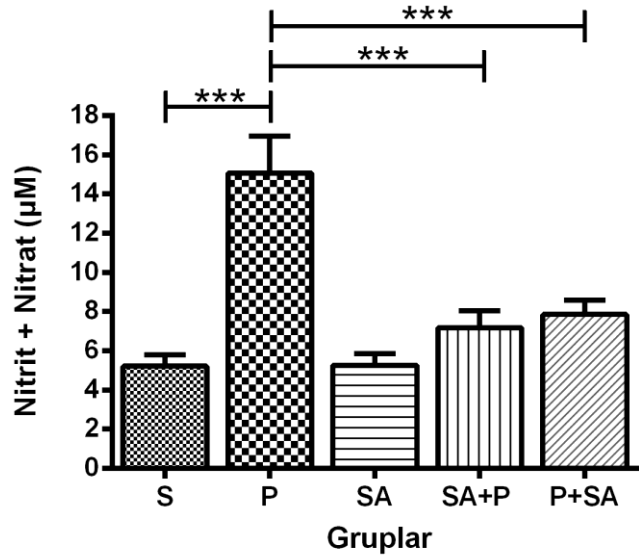
Sham grubu ile Parkinson grubu kıyaslandığında, PH'nin iNOS ekspresyonunu anlamlı derecede arttırdığı görülmüştür (Şekil 4.5., $p < 0,001^{***}$). Sirinjik asit + Parkinson grubu ve Parkinson + Sirinjik asit grubu, Parkinson grubu ile kıyaslandığında, iNOS ekspresyonunun anlamlı derecede azaldığı görülmektedir (Şekil 4.5., $p < 0,001^{***}$).



Şekil 4.5. Substantia nigra'da indüklenebilir nitrik oksit sentaz seviyeleri (ng/mg protein). S: Sham, SA: Sirinjik asit, P: Parkinson. ***, $p < 0,001$ gruplar arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir

4.2.3. Nigral Nitrit + Nitrat Düzeyinin Belirlenmesi

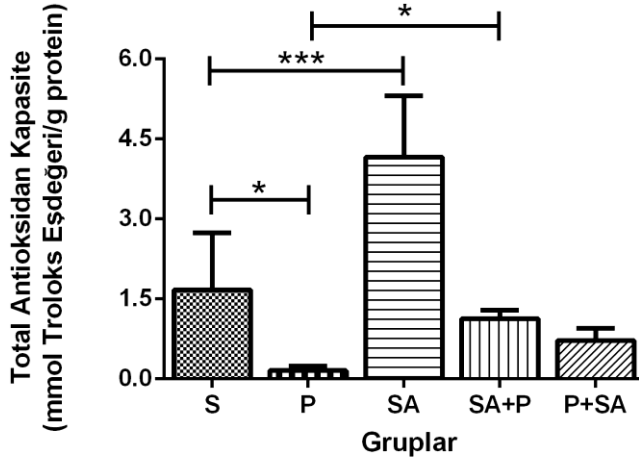
Parkinson grubunun nitrit/nitrat düzeyi (μM), Sham grubuna göre anlamlı derecede artmıştır (Şekil 4.6., $p < 0,001^{***}$). Parkinson grubu ile Sirinjik asit + Parkinson grubu arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır (Şekil 4.6., $p < 0,001^{***}$). Aynı şekilde, Parkinson grubu ile Parkinson + Sirinjik asit grubu arasında da anlamlı bir fark olduğu görülmektedir (Şekil 4.6., $p < 0,001^{***}$).



Şekil 4.6. Substantia nigra'da nitrit/nitrat seviyeleri (μM). S: Sham, SA: Sirinjik asit, P: Parkinson. ***, $p < 0,001$ gruplar arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir.

4.2.4. Total Antioksidan Kapasite Ölçümü Sonuçları

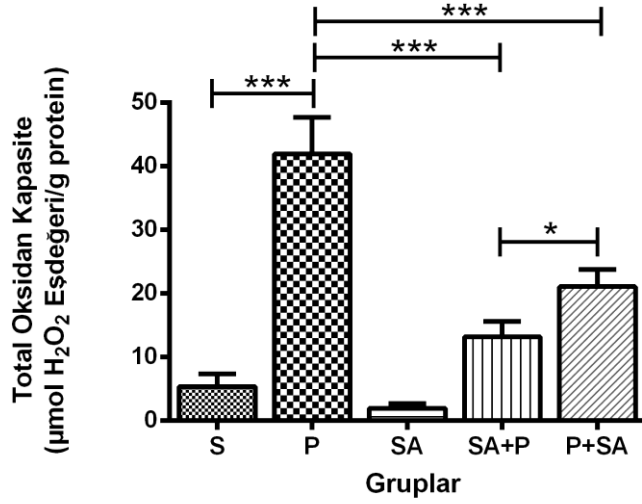
Sirinjik asit grubunun total antioksidan kapasitesi (mmol/g), Sham grubuna göre anlamlı derecede artmıştır (Şekil 4.7., $p<0,001^{***}$). Sham grubu ile Parkinson grubu kıyaslandığında, Parkinson grubunun total antioksidan kapasitesinin anlamlı derecede azaldığı görülmektedir (Şekil 4.7., $p<0,05^*$). Parkinson grubu ile Sirinjik asit + Parkinson grubu arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (Şekil 4.7., $p<0,05^*$). Parkinson grubu ile Parkinson + Sirinjik asit grubuna bakıldığında ise, Parkinson + Sirinjik asit grubunun total antioksidan kapasitesi artmasına rağmen, iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Şekil 4.7., $p>0,05$).



Şekil 4.7. Substantia nigra'nın total antioksidan kapasitesi (mmol Trolox eşdeğeri/g protein). S: Sham, SA: Sirinjik asit, P: Parkinson. *, $p<0,05$, ***, $p<0,001$ gruplar arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir.

4.2.5. Total Oksidan Kapasite Ölçümü Sonuçları

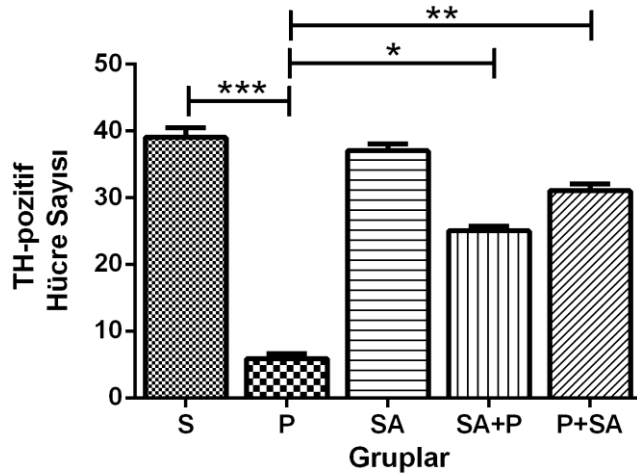
Parkinson grubunun total oksidan kapasitesi, Sham grubuna göre anlamlı derecede artmıştır (Şekil 4.8., $p<0,001^{***}$). Parkinson grubu ile Sirinjik asit + Parkinson grubu arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır (Şekil 4.8., $p<0,001^{***}$). Aynı şekilde, Parkinson grubu ile Parkinson + Sirinjik asit grubu arasında da anlamlı bir fark olduğu görülmektedir (Şekil 4.8., $p<0,001^{***}$). Sirinjik asit + Parkinson grubu ile Parkinson + Sirinjik asit grubu arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır (Şekil 4.8., $p<0,05^*$).



Şekil 4.8. Substantia nigra'nın total oksidan kapasitesi (μmol H₂O₂ eşdeğeri/g protein). S: Sham, SA: Sirinjik asit, P: Parkinson. *, $p<0,05$, ***, $p<0,001$ gruplar arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir.

4.3. Histolojik Analiz Sonuçları

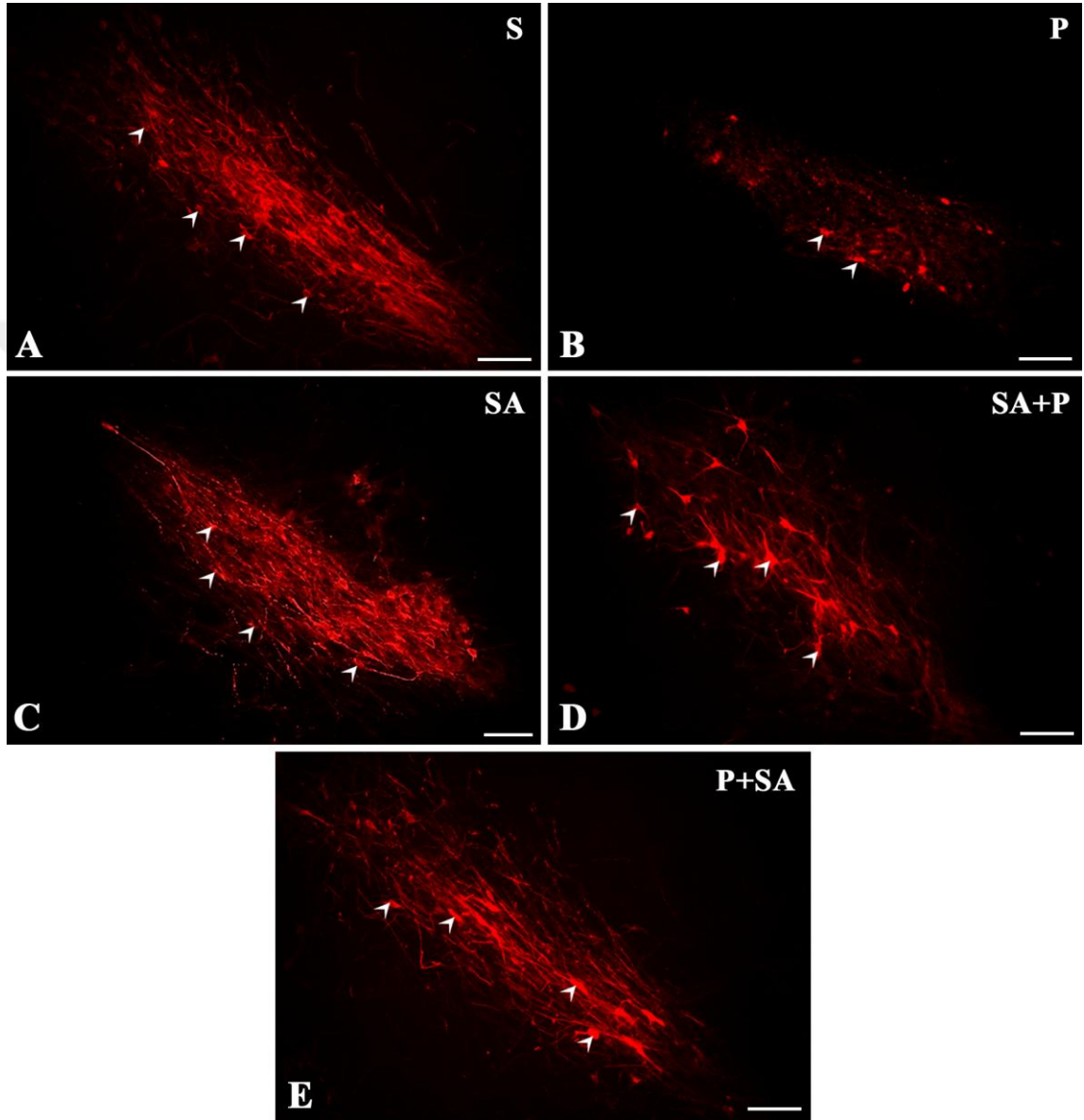
4.3.1. Tirozin Hidroksilaz (TH) Pozitif Hücre Sayısı



Şekil 4.9. Tirozin hidroksilaz pozitif hücre sayısı. S: Sham, SA: Sirinjik asit, P: Parkinson. *, $p<0,05$, **, $p<0,01$, ***, $p<0,001$ gruplar arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir.

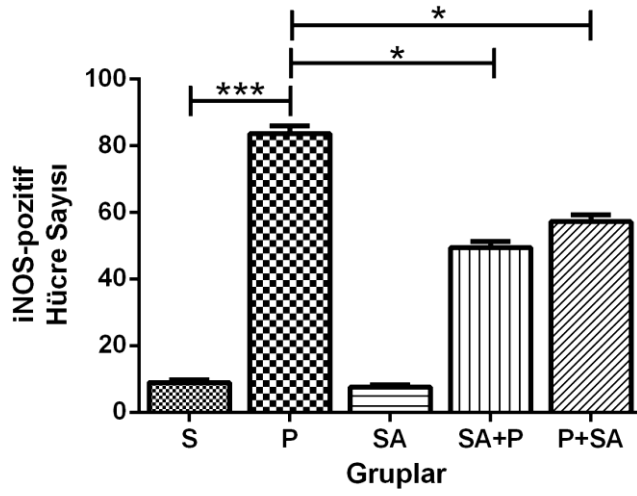
Parkinson grubunun TH pozitif hücre sayısı, Sham grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır (Şekil 4.9., $p<0,001$ ***). Sirinjik asit + Parkinson grubunun TH pozitif hücre sayısının, Parkinson grubuna göre anlamlı derecede arttığı görülmektedir (Şekil 4.9.,

$p<0,05^*$). Aynı şekilde Parkinson + Sirinjik Asit grubu ile Parkinson grubu arasında da istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmaktadır (Şekil 4.9., $p<0,01^{**}$).



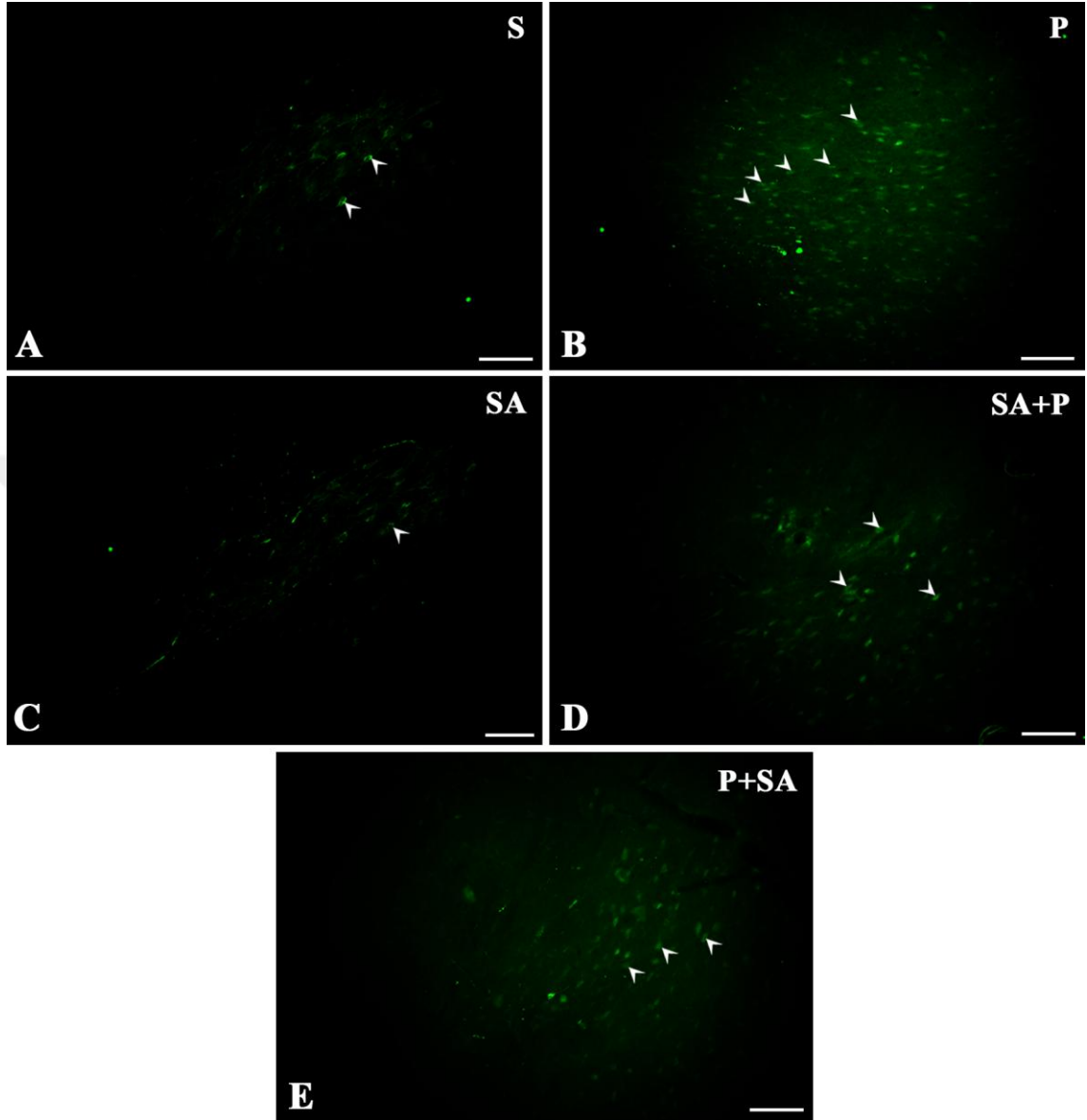
Şekil 4.10. Tirozin hidroksilaz immünoaktivitesi. S: Sham, SA: Sirinjik asit, P: Parkinson. Ok işareti, tirozin hidroksilaz pozitif hücre göstermektedir. Skala Bar 100 μ m

4.3.2. İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS) Pozitif Hücre Sayısı



Şekil 4.11. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz pozitif hücre sayısı. S: Sham, SA: Syrinjik asit, P: Parkinson. *, $p<0,05$, ***, $p<0,001$ gruplar arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir.

Parkinson grubunun iNOS pozitif hücre sayısı, Sham grubuna göre anlamlı derecede artmıştır (Şekil 4.11., $p<0,001^{***}$). Syrinjik asit+ Parkinson ve Parkinson + Syrinjik Asit grubunda ise iNOS pozitif hücre sayısının Parkinson grubuna göre anlamlı derecede azaldığı görülmektedir (Şekil 4.11., $p<0,05^{*}$).



Şekil 4.12 İndüklenebilir nitrik oksit sentaz immünoreaktivitesi. S: Sham, SA: Sirinjik asit, P: Parkinson. Ok işareti, indüklenebilir nitrik oksit sentaz pozitif hücre göstermektedir. Skala Bar 100 µm

5. TARTIŞMA

Deneyssel parkinson modelleri, PH'nin patogenezinin aydınlatılması ve potansiyel nöroprotektif ajanların belirlenmesine büyük katkılar sağlamıştır (Schober, 2004; Blandini ve Armentero, 2012). 6-hidroksidopamin nörotoksini, 1968'de Ungerstedt'in keşfinden bu yana deneyssel parkinson modeli oluşturmak için en sık kullanılan yöntemlerdendir (Ungerstedt, 1968). 6-hidroksidopamin, PH'nin nöropatolojik ve biyokimyasal özelliklerini taklit eden bir toksisite indüklediği kabul edilen, *in vitro* ve *in vivo* parkinson modeli üretmek için yaygın olarak kullanılan seçici bir katekolaminerjik nörotoksindir (Blum ve ark., 2001). 6-hidroksidopamin, kan beyin bariyerini geçemediği için stereotaksik cerrahi yoluyla SN, striatum veya MFB içerisine uygulanmaktadır (Hernandez-Baltazar ve ark., 2017). Substansia nigra girişimi, bölgede cerrahiye bağlı lezyonlar gelişmesine yol açarak dezavantaj oluşturmaktadır. Striatum girişimleri, dopaminerjik kaybın yavaş ilerlediği bir yöntemdir (Shimohama ve ark., 2003). Medial ön beyin bandı girişimlerinin, birkaç gün içerisinde büyük oranda dopaminerjik nöron kaybına yol açtığı ve dopaminerjik yolların dışında noradrenerjik ve serotonerjik yolları da etkilediği bildirilmiştir (Gubellini ve Kachidian, 2015). Deumens ve ark. insanlarda PH'nin bilateral gerçekleşmesi sebebiyle, deneyssel parkinson modellerinde bilateral lezyon oluşturulmasının, insan PH'sini daha yakından taklit ettiğini savunmuşlardır (Deumens ve ark., 2002). Literatürle uyumlu olarak, çalışmamızdaki deneyssel parkinson modelleri bilateral şekilde, MFB içerisine 6-OHDA enjeksiyonu ile gerçekleştirilmiştir.

Deneyssel parkinson çalışmalarında, 6-OHDA'nın birçok motor performans testi üzerindeki olumsuz etkileri bildirilmiştir (G. E. Meredith ve Kang, 2006a). Kumar ve ark. yaptıkları çalışmada, 6-OHDA indükledikleri sıçanlarda, deneyin 7. gününde lokomotor aktivitenin bozulduğunu bildirmişlerdir (A. Kumar, Sharma, ve ark., 2012). Yildirim ve ark. 6-OHDA ile indüklenen deneyssel parkinson modelinde melatoninin etki mekanizmasını araştırdıkları çalışmada, parkinson grubu sıçanların toplam lokomotor aktivitesinde, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azalma olduğunu bildirmişlerdir (Yildirim ve ark., 2014). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da, 6-OHDA ile indüklenen deneyssel parkinson modeli sıçanların lokomotor aktivitelerinde, Sham grubuna kıyasla

azalmalar görülmektedir. Bu azalma lokomotor aktivitenin, dopaminerjik fonksiyonlardaki değişime karşı duyarlılığı ve düşük DA miktarlarının hipoaktiviteye yol açmasından kaynaklanmaktadır (Gloria E. Meredith ve Kang, 2006b).

Rotarod testi, PH gibi nörodejeneratif hastalıkların deneysel modellerinde motor aktivitenin ve terapötik strateji etkinliğinin değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan benimsenmiş ve yararlı bir kantitatif testtir (Rozas ve Labandeira Garcia, 1997). 6-OHDA ile indüklenen deneysel parkinson modelinde, sıçanların rot (çubuk) üzerinde kalış süresinin, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir (Im ve ark., 2005; Gambhir ve ark., 2011; Jalewa ve ark., 2017). Bizim çalışmamızda da 6-OHDA toksisiteli sıçanların rot üzerinde kalış süresi, Sham grubuna göre anlamlı derecede azalarak literatüre benzerlik göstermiştir ($p<0,001$). Sıçanların rotarod performansındaki düşüşün sebebinin, SN'da TH ve DA seviyelerinin azalması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Didonet ve ark., 2014).

6-hidroksidopamin ile indüklenen deneysel parkinson modeli sıçanlarda, PH'nin kardinal bulgularından olan katatoni gözlenmektedir (Schallert ve ark., 1978; Srinivasan ve Schmidt, 2004; Ferro ve ark., 2005; Haddadi ve ark., 2015). Benzer şekilde bizim çalışmamızda dopaminerjik nöron sayısında azalma, 6-OHDA toksinli sıçanların katatoni sürelerinin Sham grubuna kıyasla anlamlı derecede artmasına neden olmuştur ($p<0,001$).

Parkinson hastalığının en belirgin özelliği, SN'da bulunan dopaminerjik nöronların progresif dejenerasyonudur. Lawler ve ark. 6-OHDA'nın dopaminerjik nöron sayısında ve DA metabolizmasında yer alan DOPAC ve HVA miktarında anlamlı derecede azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir (Lawler ve ark., 1995). Fulceri ve ark. 6-OHDA'nın nigrostriatal yolak üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, MFB girişimlerinin anlamlı derecede DA kaybına yol açtığını bildirmişlerdir (Fulceri ve ark., 2006). Kaminska ve ark. MFB'ye 6-OHDA enjeksiyonun nörodavranışsal ve nörokimyasal özelliklerini araştırdıkları çalışmada, sıçanlarda yüksek oranda dopaminerjik kayıp yaşandığını bildirmişlerdir (Kaminska ve ark., 2017). Bizim çalışmamızda da literatüre uygun şekilde, 6-OHDA ile indüklenen Parkinson, Parkinson + Sirinjik Asit, Sirinjik Asit + Parkinson grubu sıçanlarda, Sham grubuna kıyasla DA

miktarı anlamlı derecede azalmaktadır ($p<0,001$). Bu azalma oksitlenebilir dopamin analogu olan 6-OHDA'nın, nigrostriatal yolda seçici olarak dopaminerjik nöronların dejenerasyonuna neden olmasından kaynaklanmaktadır (Schwartz ve Huston, 1996).

Tirozin hidroksilaz, tirozinin L-DOPA'ya hidroksilasyonunu katalizleyen, DA sentezinin hız sınırlayıcı enzimidir. Haavik ve ark. PH'yi, striatumun TH eksikliği sendromu olarak tanımlamışlardır (Haavik ve Toska, 1998). Iancu, ve ark. MFB'ye 6-OHDA enjeksiyonunun nörodavranışsal etkilerini araştırdıkları çalışmada, parkinson grubunun TH pozitif hücre sayısının azaldığını bildirmişlerdir (Iancu ve ark., 2005). Yuan ve ark MFB ve striatal 6-OHDA lezyonlarının histolojik, davranışsal ve nörokimyasal değerlendirmesini yaptıkları çalışmada, MFB girişimlerinde anlamlı derece TH kaybına neden olduğunu göstermişlerdir (Yuan ve ark., 2005). Perlberg ve ark. sıçanlarda unilateral 6-OHDA lezyonunun nigrostriatal yolak üzerine etkilerini manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ile değerlendirdikleri çalışmada, lezyonlu tarafta TH pozitif hücre sayısının, kontralateral tarafa kıyasla %75 oranında azaldığını bildirmişlerdir (Perlberg ve ark., 2018). Bizim çalışmamızda, 6-OHDA ile indüklenen Parkinson, Parkinson + Sirinjik Asit, Sirinjik Asit + Parkinson grubu sıçanların, TH pozitif nöron sayısı Sham grubuna kıyasla anlamlı derecede azalarak ($p<0,001$) literatüre uygunluk göstermiştir.

6-hidroksidopamin'in, SN içindeki yapısal ve fonksiyonel bakımdan tahribata neden olan hidrojen peroksit ve diğer reaktif oksijen türlerinin üretimine katkıda bulunduğu ve böylece oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir (Heikkilä ve Cohen, 1971). Saito ve ark. yaptıkları çalışmada, 6-OHDA'nın H_2O_2 seviyelerini arttırdığını ve H_2O_2 'nin, laktik asit dehidrojenazın inhibe edilmesi yoluyla anaerobik glikoliz kaybına neden olduğunu göstermişlerdir (Saito ve ark., 2007). Kumar ve ark. 6-OHDA'nın, lipid peroksidasyon ürünü olan TBARS artışına ve mitokondriyal enzim kompleksinin disfonksiyonuna neden olduğunu bildirmişlerdir (A. Kumar, Sharma, ve ark., 2012). Kulich ve ark, 6-OHDA'nın mitokondri faaliyeti üzerine etkilerini araştırmak için yapıları çalışmada, 6-OHDA'nın H_2O_2 kaynaklı sitotoksositeye neden olduğunu göstermişlerdir (Kulich ve ark., 2007). Benzer şekilde bizim çalışmamızda, 6-OHDA ile indüklenen Parkinson, Parkinson + Sirinjik Asit, Sirinjik Asit + Parkinson grubu sıçanların, total oksidan

kapasitelerinin, Sham grubuna kıyasla anlamlı derecede arttığı görülmektedir ($p<0,001$). Bu oksidasyon artışının sebebi reaktif oksijen türlerinin üretimi, H_2O_2 kaynaklı sitotoksisite, lipid peroksidasyon artışı veya mitokondriyal enzim kompleksinin disfonksiyonundan kaynaklanmış olabilir.

Merkezi sinir sisteminde, oksidatif stresi azaltmak için antioksidan enzimler görev almaktadır ve antioksidan enzimlerin azalması, oksidatif stresin artmasına neden olarak, nörodejenerasyona sebep olmaktadır (MatÉs ve ark., 1999). Khan ve ark. 6-OHDA indükleyerek oluşturdukları deneysel parkinson modeli sıçanlarda, GPx, glutatyon redüktaz (GR), CAT ve SOD gibi antioksidan enzimlerin azaldığını bildirmişlerdir (Khan ve ark., 2010). Magalingam ve ark. yaptıkları çalışmada 6-OHDA'nın antioksidan enzimleri anlamlı derecede azalttığını göstermişlerdir (Magalingam ve ark., 2014). Perumal ve ark. 6-OHDA maruziyetinden sonra, sıçanların beynindeki total GSH ve SOD seviyelerinin azaldığını bildirmişlerdir (Perumal ve ark., 1992). Bizim çalışmamızda da, 6-OHDA ile indüklenen Parkinson, Parkinson + Sirinjik Asit, Sirinjik Asit + Parkinson grubu sıçanların, total antioksidan kapasiteleri, Sham grubuna kıyasla anlamlı derecede azalmıştır ($p<0,05$).

Proinflamatuvar faktörler arasında, nitrik oksit ve peroksinitrit gibi reaktif azot türleri, dopaminerjik nöronların toksisitesinde önemli bir rol oynamaktadır (Okuno ve ark., 2005). Broom ve ark. 6-OHDA'nın iNOS ekspresyonunda artışa neden olduğunu ve NO'nun PH'nin dejeneratif sürece katkıda bulunduğunu göstermişlerdir. Ayrıca yaptıkları çalışma ile iNOS inhibitörlerinin nöroprotektif etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir (Broom ve ark., 2011). Barthwal ve ark. PH'de meydana gelen progresif nörodejenerasyonda NO'nun rolünü araştırdıkları çalışmada, 6-OHDA lezyonlu sıçanlarda 3. gün itibariyle iNOS ekspresyonunda artış meydana geldiğini ve artan NO seviyelerinin dopaminerjik nöronları tahrip ederek nöronal ölüme yol açtığını bildirmişlerdir (Barthwal ve ark., 2001). Li ve ark. 6-OHDA lezyonlu sıçanlarda iNOS ekspresyonunun arttığını ve bu artışın DNA hasarına ve nöronal ölüme yol açtığını göstermişlerdir (Li ve ark., 2012). Ayrıca iNOS inhibitörünün TH, DA, DOPAC ve HVA seviyelerinde artış sağladığını, OX42 proteini (nigrostriatal yoldaki mikrogliya aktivasyonu için bir markör), p53 proteini, Bax ve kaspaz-3 seviyelerini azalttığını ve bu

sayede nöroprotektif etki sağladığını bildirmişlerdir (Li ve ark., 2012). İmmüno Floresan yöntem ile iNOS ekspresyonu değerlendirildiğinde, 6-OHDA ile indüklenen Parkinson, Parkinson + Sirinjik Asit, Sirinjik Asit + Parkinson grubu sıçanların iNOS ekspresyonunun, Sham grubuna kıyasla anlamlı derecede arttığı görülmektedir (P; $p<0,001$, SA+P, P+SA; $p<0,05$). Ayrıca biyokimyasal analizlerde de Parkinson, Parkinson + Sirinjik Asit, Sirinjik Asit + Parkinson grubu sıçanların iNOS ekspresyonunun ve nitrit/nitrat seviyelerinin, Sham grubuna kıyasla anlamlı derecede arttığı görülmektedir (P; $p<0,001$, SA+P, P+SA; $p<0,05$). Bu artışa 6-OHDA enjeksiyonu sonrasında gelişen inflamasyonun, mikroglia aktivasyonu ile iNOS ekspresyonuna yol açması sebep olmaktadır (Hald ve Lotharius, 2005).

Çeşitli fenolik bileşiklerin deneysel parkinson modeli hayvanlarda, motor aktivite üzerine olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2010; Zhao ve ark., 2013; Nagarajan ve ark., 2015; Tsai ve ark., 2015; Luo ve ark., 2018). Fakat literatürde SA'nın motor aktivite üzerine etkilerine dair çalışmalar oldukça kısıtlıdır (Rekha ve ark., 2014). Bizim çalışmamızda, SA'nın 6-OHDA ile indüklenen deneysel parkinson modelinde, antioksidan kapasiteyi ve dopamin seviyelerini artırması nedeniyle toplam lokomotor aktivite üzerinde koruyucu etki yarattığı görülmektedir. Ayrıca SA, 6-OHDA'nın neden olduğu katatoni sürelerini anlamlı derecede azaltmaktadır. Sıçanların motor koordinasyon ve dengelerinin değerlendirildiği rotarod testinde, SA'nın, 6-OHDA ile indüklenen sıçanlar üzerinde etkisi olmadığı görülmüştür. Bu sonucun sıçanların cerrahi sonrasında yetersiz beslenme ile kilo kaybı yaşamasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Literatürde SA'nın dopaminerjik yollar üzerine etkisini gösteren çalışma oldukça azdır. Srinivasulu ve ark. SA'nın, DAT, VMAT2 reseptör sayısında ve TH enzim aktivasyonunda artış sağladığını bildirmişlerdir (Srinivasulu ve ark., 2018). Rekha ve ark. MPTP ile indüklenen deneysel parkinson modeli sıçanlarda, SA'nın DA, DOPAC, HVA ve TH seviyelerini artırarak nöroprotektif etki gösterdiğini bildirmişlerdir (Rekha ve ark., 2014). Bizim çalışmamızda, Sirinjik asit + Parkinson ve Parkinson + Sirinjik asit gruplarının nigral DA seviyeleri ve TH immünoaktiviteleri, Parkinson grubuna kıyasla

anlamli derecede yuaksektir. Bu sonuqlar bize SA'nin, PH patogenezinde dopaminerjik yolak uzerinde koruyucu ve iyilestirici rol oynadigini gostermektedir.

Belkheiri ve ark. sirinjik hidrazon ailesinin etkilerini degerlendirdikleri calismada, SA'nin hucre aracili LDL oksidasyonunu ve 4-HNE aracili hucre olumunu inhibe ettigini, TBARS seviyelerini azalttigini, ROS ve supe oksit olusumunu engelledigini, buyulece oksidatif ve karbonil stresi azalttigini bildirmislerdir (Belkheiri ve ark., 2010). Tokmak ve ark. serebral iskemili sicanlarda SA'nin noeroprotektif etkisini arastirdiklari calismada, iskemii sonrasii SA uygulanan gruplarda lipit peroksidasyonun son urunu olan MDA seviyelerinin azaldigini ve SOD aktivitesinin arttigini bildirmislerdir (Mehmet Tokmak ve ark., 2015b). Morton ve ark. fenolik bileşiklerin koruyucu etkilerini arastirdiklari calismada, SA'nin serbest radikalleri inhibe ettigini ve LDL oksidasyonunda inhibitör etkiye sahip oldugunu gostermislerdir (Morton ve ark., 2000). Bizim calismamizda, Sirinjik asit grubunun total antioksidan kapasitesi, Sham grubuna kiyasla anlamli derecede artii gostermistir ($p<0,001$). Ayrice SA, 6-OHDA toksisitesi karşısında total antioksidan kapasiteyi arttirmiş ve total oksidan kapasiteyi azaltmiştir. Bu sonuqlar bize guclu bir antioksidan olan SA'nin, PH patogenezinde onemli rol oynayan oksidatif stres uzerinde olumlu etkileri olabilecegini gostermektedir.

Hämäläinen ve ark. flavanoidlerin antiinflamatuvar etkilerini arastirdiklari calismada, SA'nin iNOS inhibitiörü ozellik sergiledigini ve NO seviyelerini azalttigini gostermislerdir (Hämäläinen ve ark., 2007). Kumar ve ark. hipertansif sican modelinde SA'nin, artan nitrit/ nitrat miktarini anlamli derecede azalttigini bildirmislerdir (S. Kumar, Prahalathan, ve ark., 2012). Yan ve ark. SA'nin farelerde etanol kaynakli hepatotoksositeye karşı etkilerini arastirdiklari calismada, SA'nin iNOS ekspresyonunu azalttigini bildirmislerdir. (S.-l. Yan ve ark., 2016). Lee ve ark. *Taraxaci herba* (SA ikerir)'nin LPS ile induklenen RAW 264.7 hucrelerinde iNOS inhibisyonuna neden oldugunu (Lee ve ark., 2010) ve *Taraxacum coreanum* (SA ikerir)'un makrofajlari aktivasyonu ile artan iNOS ekspresyonunu inhibe ettigini ve dolayisiyla NO seviyelerini azaltarak antiinflamatuvar etki sergiledigini gostermislerdir (Lee ve ark., 2013). Ogut ve ark. sicanlarda subkronik deltametrin maruziyetinin neden olduğu oksidatif hasar uzerinde SA'nin koruyucu etkilerini arastirdiklari calismada, ROS/RNS duzeylerini ve

oksidatif hasarı azaltarak, antiapoptik ve antioksidan özelliğiyle nöroprotektif etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir (Ogut ve ark., 2019). Literatürde deneysel parkinson modelinde SA'nın iNOS ekspresyonu üzerine etkilerini gösteren çalışma bulunmamaktadır. Nigral iNOS seviyelerini ve iNOS immünoaktivitelerini değerlendirdiğimiz çalışmamızda SA'nın, 6-OHDA toksisitesine karşı iNOS ekspresyonunu inhibe ederek 6-OHDA ile artan nitrit ve nitrat seviyelerini azalttığı gösterilmiştir. SA'nın iNOS inhibitörü özellik sergilemesi, antiinflamatuvar etkisiyle mikrogliya aktivasyonunu durdurmasından kaynaklanabilir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sıçanlarda stereotaksik cerrahi yoluyla MFB'ye 6-OHDA nörotoksini uygulanması, SN bölgesinde yüksek oranlarda DA ve TH pozitif hücre kaybına yol açmaktadır. 6-OHDA, sıçanlarda lokomotor aktivite kaybına neden olmuştur. Locomotor aktivite ve rotarod testi sonuçları, motor aktivitenin bozulduğunu doğrulamıştır. Katatoni testinde sıçanların donma sürelerinin uzaması, 6-OHDA'nın bradikineziye neden olduğunu göstermektedir. 6-OHDA, SN bölgesinde total antioksidan kapasitenin azalmasına ve total oksidan kapasitenin artmasına neden olmaktadır. Ayrıca 6-OHDA'nın iNOS immünoaktivitesini ve dolayısıyla nitrit nitrat seviyelerini arttırdığı görülmektedir. Tüm bu sonuçlar, deneysel parkinson modeli oluşturmak için 6-OHDA nörotoksini kullanılmasının güvenilir bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Sirinjik asidin total antioksidan kapasitenin anlamlı derecede artmasına neden olması, oksidatif strese karşı potansiyel koruyucu rolünü göstermektedir. Literatürde 6-OHDA ile indüklenen deneysel parkinson modelinde SA'nın etkilerini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Sirinjik asit, 6-OHDA toksisitesi karşısında DA ve TH seviyelerinin korunmasına ve artmasına sebep olarak dopaminerjik yolak üzerinde olumlu etki sağlamaktadır. Sirinjik asit+ Parkinson grubunun Parkinson grubuna kıyasla, lokomotor aktivite ve katatoni testleri arasında anlamlı farklılık olması, SA'nın motor aktivite üzerinde koruyucu bir rolü olduğunu göstermektedir. Sirinjik asit + Parkinson ve Parkinson + Sirinjik asit gruplarının Parkinson grubuna kıyasla total antioksidan kapasitelerinin anlamlı derecede yüksek olması, SA'nın 6-OHDA toksisitesine karşı antioksidan etki mekanizmasını arttırdığını göstermektedir. Sirinjik asit + Parkinson ve Parkinson + Sirinjik asit gruplarının nitrit, nitrat seviyelerinin Parkinson grubuna kıyasla anlamlı derecede azaldığı görülmektedir. Ayrıca SA uygulaması yapılan gruplarda Parkinson grubuna kıyasla iNOS seviyelerinin azalması, SA'nın iNOS inhibisyonuna neden olarak antiinflamatuvar etki sağladığını göstermektedir.

6-hidroksidopamin deney hayvanlarında PH'nin motor belirtilerinin görülmesine neden olduğu için semptomatik tedavi çalışmalarında kullanılabilir. 6-OHDA'nın PH patogenezi benzer şekilde taklit etmesi, patogeneze yer alan mekanizmanın

aydınlatılması ve potansiyel terapötik ajanların belirlenmesi için deneysel çalışmalara fırsat yaratmaktadır.

Güçlü bir antioksidan olan SA, birçok hastalığın patogeneğinde yer alan oksidatif stres için koruyucu ve iyileştirici etkiler sergileyebilir. SA, iNOS inhibitörü özelliği göstermesinden dolayı, nöroinflamatuvar hastalıklar için potansiyel bir terapötik ajan olabilir.

Sirinjik asidin 6-OHDA toksisitesine karşı koruyucu bir etki göstermesi, PH riskini azaltabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada SA'nın, deneysel parkinson modelinde, antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri olan nöroprotektif bir ajan olduğu gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

Abaza, M. S., Al-Attiah, R., Bhardwaj, R., Abbadi, G., Koyippally, M., & Afzal, M. Syringic acid from tamarix aucheriana possesses antimitogenic and chemo-sensitizing activities in human colorectal cancer cells. *Pharmaceutical biology*. 2013; 51 (9): 1110-1124.

Akao, Y., Maruyama, W., Yi, H., Shamoto-Nagai, M., Youdim, M. B., & Naoi, M. An anti-parkinson's disease drug, n-propargyl-1(r)-aminoindan (rasagiline), enhances expression of anti-apoptotic bcl-2 in human dopaminergic sh-sy5y cells. *Neuroscience letters*. 2002; 326 (2): 105-108.

Alam, Z. I., Daniel, S. E., Lees, A. J., Marsden, D. C., Jenner, P., & Halliwell, B. A generalised increase in protein carbonyls in the brain in parkinson's but not incidental lewy body disease. *Journal of neurochemistry*. 1997; 69 (3): 1326-1329.

Ambrosi, G., Cerri, S., & Blandini, F. A further update on the role of excitotoxicity in the pathogenesis of parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission*. 2014; 121 (8): 849-859.

Anlauf, M., Schäfer, M. K., Eiden, L., & Weihe, E. Chemical coding of the human gastrointestinal nervous system: Cholinergic, vipergic, and catecholaminergic phenotypes. *The Journal of comparative neurology*. 2003; 459 (1): 90-111.

Ara, J., Przedborski, S., Naini, A. B., Jackson-Lewis, V., Trifiletti, R. R., Horwitz, J., & Ischiropoulos, H. Inactivation of tyrosine hydroxylase by nitration following exposure to peroxynitrite and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (mptp). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998; 95 (13): 7659-7663.

Barthwal, M. K., Srivastava, N., & Dikshit, M. Role of nitric oxide in a progressive neurodegeneration model of parkinson's disease in the rat. *Redox Report*. 2001; 6 (5): 297-302.

Beaulieu, J. M., Espinoza, S., & Gainetdinov, R. R. Dopamine receptors - iuphar review 13. *British journal of pharmacology*. 2015; 172 (1): 1-23.

Beaulieu, J. M., & Gainetdinov, R. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacological reviews*. 2011; 63 (1): 182-217.

Beckman, J. S., & Koppenol, W. H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: The good, the bad, and ugly. *The American journal of physiology*. 1996; 271 (5 Pt 1): C1424-1437.

Beevi, S. S., Narasu, M. L., & Gowda, B. B. Polyphenolics profile, antioxidant and radical scavenging activity of leaves and stem of raphanus sativus l. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2010; 65 (1): 8-17.

Belkheiri, N., Bouguerne, B., Bedos-Belval, F., Duran, H., Bernis, C., Salvayre, R., Baltas, M. Synthesis and antioxidant activity evaluation of a syringic hydrazones family. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010; 45 (7): 3019-3026.

Bellou, V., Belbasis, L., Tzoulaki, I., Evangelou, E., & Ioannidis, J. P. Environmental risk factors and parkinson's disease: An umbrella review of meta-analyses. *Parkinsonism Relat Disord*. 2016; 23: 1-9.

Bertler, A., & Rosengren, E. Occurrence and distribution of catechol amines in brain. *Acta physiologica Scandinavica*. 1959; 47: 350-361.

Blandini, F., & Armentero, M.-T. Animal models of parkinson's disease. *The FEBS Journal*. 2012; 279 (7): 1156-1166.

Blandini, F., Levandis, G., Bazzini, E., Nappi, G., & Armentero, M.-T. Time-course of nigrostriatal damage, basal ganglia metabolic changes and behavioural alterations following intrastratial injection of 6-hydroxydopamine in the rat: New clues from an old model. *European Journal of Neuroscience*. 2007; 25 (2): 397-405.

Blandini, F., Porter, R. H. P., & Greenamyre, J. T. Glutamate and parkinson's disease. *Molecular neurobiology*. 1996; 12 (1): 73-94.

Bloem, B. R. Postural instability in parkinson's disease. *Clinical neurology and neurosurgery*. 1992; 94 Suppl: S41-45.

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.

Borland, M. K., Trimmer, P. A., Rubinstein, J. D., Keeney, P. M., Mohanakumar, K., Liu, L., & Bennett, J. P., Jr. Chronic, low-dose rotenone reproduces lewy neurites found in early stages of parkinson's disease, reduces mitochondrial movement and slowly kills differentiated sh-sy5y neural cells. *Molecular neurodegeneration*. 2008; 3: 21.

Bose, A., & Beal, M. F. Mitochondrial dysfunction in parkinson's disease. *Journal of neurochemistry*. 2016; 139 Suppl 1: 216-231.

Braak, H., Del Tredici, K., Rub, U., de Vos, R. A., Jansen Steur, E. N., & Braak, E. Staging of brain pathology related to sporadic parkinson's disease. *Neurobiology of aging*. 2003; 24 (2): 197-211.

Bromek, E., Haduch, A., Golembiowska, K., & Daniel, W. A. Cytochrome p450 mediates dopamine formation in the brain in vivo. *Journal of neurochemistry*. 2011; 118 (5): 806-815.

Broom, L., Marinova-Mutafchieva, L., Sadeghian, M., Davis, J. B., Medhurst, A. D., & Dexter, D. T. Neuroprotection by the selective inos inhibitor gw274150 in a model of parkinson disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011; 50 (5): 633-640.

Brown, G. C. Nitric oxide and neuronal death. *Nitric oxide : biology and chemistry*. 2010; 23 (3): 153-165.

Bulbul, M., Sinen, O., Ozkan, A., Aslan, M. A., & Agar, A. Central neuropeptide-s treatment improves neurofunctions of 6-ohda-induced parkinsonian rats. *Exp Neurol*. 2019; 317: 78-86.

Button, R. W., Luo, S., & Rubinsztein, D. C. Autophagic activity in neuronal cell death. *Neuroscience bulletin*. 2015; 31 (4): 382-394.

Cadet, J. L., & Brannock, C. Free radicals and the pathobiology of brain dopamine systems. *Neurochemistry international*. 1998; 32 (2): 117-131.

Carlsson, A. Treatment of parkinson's with l-dopa. The early discovery phase, and a comment on current problems. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*. 2002; 109 (5-6): 777-787.

Chao, Y., Wong, S. C., & Tan, E. K. Evidence of inflammatory system involvement in parkinson's disease. *BioMed research international*. 2014; 2014: 308654.

Charcot, J. M. Lectures on the diseases of the nervous system (Vol. 60): John Churchill & Sons; 1877, p:

Chatha, B. T., Bernard, V., Streit, P., & Bolam, J. P. Synaptic localization of ionotropic glutamate receptors in the rat substantia nigra. *Neuroscience*. 2000; 101 (4): 1037-1051.

Chaturvedi, R. K., & Beal, M. F. Mitochondrial approaches for neuroprotection. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008; 1147: 395-412.

Chen, H., Zhang, S. M., Hernán, M. A., Schwarzschild, M. A., Willett, W. C., Colditz, G. A., . . . Ascherio, A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of parkinson disease. *Archives of neurology*. 2003; 60 (8): 1059-1064.

Chen, J., Song, J., Yuan, P., Tian, Q., Ji, Y., Ren-Patterson, R., . . . Weinberger, D. R. Orientation and cellular distribution of membrane-bound catechol-o-methyltransferase in cortical neurons: Implications for drug development. *The Journal of biological chemistry*. 2011; 286 (40): 34752-34760.

Dar, M. S., & Ikram, M. Studies on quercus infectoria; isolation of syringic acid and determination of its central depressive activity. *Planta medica*. 1979; 35 (2): 156-161.

de la Rosa, L. A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019). Chapter 12 - phenolic compounds. In E. M. Yahia (Ed.), *Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables* (pp. 253-271): Woodhead Publishing.

de Lau, L. M., & Breteler, M. M. Epidemiology of parkinson's disease. *The Lancet. Neurology*. 2006; 5 (6): 525-535.

DeMaagd, G., & Philip, A. Parkinson's disease and its management: Part 1: Disease entity, risk factors, pathophysiology, clinical presentation, and diagnosis. *P T*. 2015; 40 (8): 504-532.

Deumens, R., Blokland, A., & Prickaerts, J. Modeling parkinson's disease in rats: An evaluation of 6-ohda lesions of the nigrostriatal pathway. *Exp Neurol*. 2002; 175 (2): 303-317.

Dexter, D. T., Holley, A. E., Flitter, W. D., Slater, T. F., Wells, F. R., Daniel, S. E., . . . Marsden, C. D. Increased levels of lipid hydroperoxides in the parkinsonian substantia nigra: An hplc and esr study. *Movement Disorders*. 1994; 9 (1): 92-97.

Dickson, D. W. Parkinson's disease and parkinsonism: Neuropathology. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2012; 2 (8).

Didonet, J. J., Cavalcante, J. C., Souza, L. d. S., Costa, M. S. M. O., André, E., Soares-Rachetti, V. d. P., . . . Gavioli, E. C. Neuropeptide s counteracts 6-ohda-induced motor deficits in mice. *Behavioural Brain Research*. 2014; 266: 29-36.

Dunham, N. W., & Miya, T. S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. *Journal of the American Pharmaceutical Association. American Pharmaceutical Association*. 1957; 46 (3): 208-209.

Ebadi, M., & Sharma, S. K. Peroxynitrite and mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of parkinson's disease. *Antioxidants & redox signaling*. 2003; 5 (3): 319-335.

Ebadi, M., Sharma, S. K., Ghafourifar, P., Brown-Borg, H., & El Refaey, H. Peroxynitrite in the pathogenesis of parkinson's disease and the neuroprotective role of metallothioneins. *Methods in enzymology*. 2005; 396: 276-298.

Eiden, L. E., Schäfer, M. K. H., Weihe, E., & Schütz, B. The vesicular amine transporter family (slc18): Amine/proton antiporters required for vesicular accumulation and regulated exocytotic secretion of monoamines and acetylcholine. *Pflügers Archiv*. 2004; 447 (5): 636-640.

Eisenhofer, G., Kopin, I. J., & Goldstein, D. S. Catecholamine metabolism: A contemporary view with implications for physiology and medicine. *Pharmacological reviews*. 2004; 56 (3): 331-349.

Esterbauer, H., Schaur, R. J., & Zollner, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free radical biology & medicine*. 1991; 11 (1): 81-128.

Fabre, E., Monserrat, J., Herrero, A., Barja, G., & Leret, M. L. Effect of mptp on brain mitochondrial h₂O₂ and atp production and on dopamine and dopac in the striatum. *Journal of physiology and biochemistry*. 1999; 55 (4): 325-331.

FAHN, S. Description of parkinson's disease as a clinical syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2003; 991 (1): 1-14.

Fernstrom, J. D., & Fernstrom, M. H. Tyrosine, phenylalanine, and catecholamine synthesis and function in the brain. *The Journal of nutrition*. 2007; 137 (6 Suppl 1): 1539S-1547S; discussion 1548S.

Ferro, M. M., Bellissimo, M. I., Anselmo-Franci, J. A., Angellucci, M. E. M., Canteras, N. S., & Da Cunha, C. Comparison of bilaterally 6-ohda- and mptp-lesioned rats as models of the early phase of parkinson's disease: Histological, neurochemical, motor and memory alterations. *Journal of Neuroscience Methods*. 2005; 148 (1): 78-87.

Figuerola, L. A., Navarro, L. B., Patino, M., & Petricevich, V. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents, and cytotoxicity evaluation of *bougainvillea xbuttiana*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014; 6: 497-502.

Fiskum, G., Starkov, A., Polster, B. M., & Chinopoulos, C. Mitochondrial mechanisms of neural cell death and neuroprotective interventions in parkinson's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2003; 991: 111-119.

Floresco, S. B., West, A. R., Ash, B., Moore, H., & Grace, A. A. Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. *Nature neuroscience*. 2003; 6 (9): 968-973.

Forstermann, U., Closs, E. I., Pollock, J. S., Nakane, M., Schwarz, P., Gath, I., & Kleinert, H. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*. 1994; 23 (6 Pt 2): 1121-1131.

Forstermann, U., & Sessa, W. C. Nitric oxide synthases: Regulation and function. *European heart journal*. 2012; 33 (7): 829-837, 837a-837d.

Fulceri, F., Biagioni, F., Lenzi, P., Falleni, A., Gesi, M., Ruggieri, S., & Fornai, F. Nigrostriatal damage with 6-ohda: Validation of routinely applied procedures. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006; 1074: 344-348.

Galluzzi, L., Pietrocola, F., Levine, B., & Kroemer, G. Metabolic control of autophagy. *Cell*. 2014; 159 (6): 1263-1276.

Gambhir, H., Mathur, R., & Behari, M. Progressive impairment in motor skill learning at 12 and 20 weeks post 6-ohda- snc lesion in rats. *Parkinsonism Relat Disord*. 2011; 17 (6): 476-478.

Gatto, E. M., Riobo, N. A., Carreras, M. C., Chernavsky, A., Rubio, A., Satz, M. L., & Poderoso, J. J. Overexpression of neutrophil neuronal nitric oxide synthase in parkinson's disease. *Nitric oxide : biology and chemistry*. 2000; 4 (5): 534-539.

Gelb, D. J., Oliver, E., & Gilman, S. Diagnostic criteria for parkinson disease. *Archives of neurology*. 1999; 56 (1): 33-39.

Giguere, N., Burke Nanni, S., & Trudeau, L. E. On cell loss and selective vulnerability of neuronal populations in parkinson's disease. *Frontiers in neurology*. 2018; 9: 455.

Giordano, S., Darley-USmar, V., & Zhang, J. Autophagy as an essential cellular antioxidant pathway in neurodegenerative disease. *Redox biology*. 2014; 2: 82-90.

Giros, B., & Caron, M. G. Molecular characterization of the dopamine transporter. *Trends in pharmacological sciences*. 1993; 14 (2): 43-49.

Goedert, M., Spillantini, M. G., Del Tredici, K., & Braak, H. 100 years of lewy pathology. *Nature reviews. Neurology*. 2013; 9 (1): 13-24.

Grabli, D., Karachi, C., Welter, M.-L., Lau, B., Hirsch, E. C., Vidailhet, M., & François, C. Normal and pathological gait: What we learn from parkinson's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 2012a; 83 (10): 979-985.

Grabli, D., Karachi, C., Welter, M. L., Lau, B., Hirsch, E. C., Vidailhet, M., & François, C. Normal and pathological gait: What we learn from parkinson's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 2012b; 83 (10): 979-985.

Grattan, D. R. 60 years of neuroendocrinology: The hypothalamo-prolactin axis. *The Journal of endocrinology*. 2015; 226 (2): T101-122.

Gubellini, P., & Kachidian, P. Animal models of parkinson's disease: An updated overview. *Revue neurologique*. 2015; 171 (11): 750-761.

Guillot, T. S., & Miller, G. W. Protective actions of the vesicular monoamine transporter 2 (vmat2) in monoaminergic neurons. *Molecular neurobiology*. 2009; 39 (2): 149-170.

Guimarães, C. M., Gião, M. S., Martinez, S. S., Pintado, A. I., Pintado, M. E., Bento, L. S., & Malcata, F. X. Antioxidant activity of sugar molasses, including protective effect against DNA oxidative damage. *Journal of Food Science*. 2007; 72 (1): C039-C043.

Guven, M., Aras, A. B., Topaloglu, N., Ozkan, A., Sen, H. M., Kalkan, Y., . . . Cosar, M. The protective effect of syringic acid on ischemia injury in rat brain. *Turk J Med Sci.* 2015; 45 (1): 233-240.

Haavik, J., & Toska, K. Tyrosine hydroxylase and parkinson's disease. *Molecular neurobiology.* 1998; 16 (3): 285-309.

Haddadi, R., Eyvari Brooshghalan, S., Farajniya, S., Mohajjel Nayebi, A., & Sharifi, H. Short-term treatment with silymarin improved 6-ohda-induced catalepsy and motor imbalance in hemi-parkinsonian rats. *Adv Pharm Bull.* 2015; 5 (4): 463-469.

Hald, A., & Lotharius, J. Oxidative stress and inflammation in parkinson's disease: Is there a causal link? *Exp Neurol.* 2005; 193 (2): 279-290.

Ham, J. R., Lee, H.-I., Choi, R.-Y., Sim, M.-O., Seo, K.-I., & Lee, M. K. Anti-steatotic and anti-inflammatory roles of syringic acid in high-fat diet-induced obese mice. *Food Funct.* 2016; 7.

Hämäläinen, M., Nieminen, R., Vuorela, P., Heinonen, M., & Moilanen, E. Anti-inflammatory effects of flavonoids: Genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibit stat-1 and nf-kb activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only nf-kb activation along with their inhibitory effect on inos expression and no production in activated macrophages. *Mediators of Inflammation.* 2007; 2007: 045673.

Hardy, J., Lewis, P., Revesz, T., Lees, A., & Paisan-Ruiz, C. The genetics of parkinson's syndromes: A critical review. *Current opinion in genetics & development.* 2009; 19 (3): 254-265.

Hegde, P. S., Anitha, B., & Chandra, T. S. In vivo effect of whole grain flour of finger millet (*eleusine coracana*) and kodo millet (*paspalum scrobiculatum*) on rat dermal wound healing. *Indian journal of experimental biology.* 2005; 43 (3): 254-258.

Heikkila, R., & Cohen, G. Inhibition of biogenic amine uptake by hydrogen peroxide: A mechanism for toxic effects of 6-hydroxydopamine. *Science (New York, N.Y.)*. 1971; 172 (3989): 1257-1258.

Hernandez-Baltazar, D., Zavala-Flores, L. M., & Villanueva-Olivo, A. The 6-hydroxydopamine model and parkinsonian pathophysiology: Novel findings in an older model. *Neurologia (Barcelona, Spain)*. 2017; 32 (8): 533-539.

Hess, C. W., & Hallett, M. The phenomenology of parkinson's disease. *Semin Neurol*. 2017; 37 (2): 109-117.

Hikosaka, O., Nakamura, K., Sakai, K., & Nakahara, H. Central mechanisms of motor skill learning. *Current opinion in neurobiology*. 2002; 12 (2): 217-222.

Hirano, T. Repair system of 7, 8dihydro8-oxoguanine as a defense line against carcinogenesis. *Journal of Radiation Research - J RADIAT RES*. 2008; 49: 329-340.

Hirsch, L., Jette, N., Frolkis, A., Steeves, T., & Pringsheim, T. The incidence of parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Neuroepidemiology*. 2016; 46 (4): 292-300.

Ho, P. W., Ho, J. W., Liu, H. F., So, D. H., Tse, Z. H., Chan, K. H., . . . Ho, S. L. Mitochondrial neuronal uncoupling proteins: A target for potential disease-modification in parkinson's disease. *Translational neurodegeneration*. 2012; 1 (1): 3.

Hornykiewicz, O. Biochemical pathophysiology of parkinson's disease. *Parkinson's disease. Advances in Neurology*. 1986; 45: 19-34.

Horvitz, J. C. Mesolimbocortical and nigrostriatal dopamine responses to salient non-reward events. *Neuroscience*. 2000; 96 (4): 651-656.

Hostiuc, S., Drima, E., & Buda, O. Shake the disease. Georges marinesco, paul blocq and the pathogenesis of parkinsonism, 1893. *Frontiers in neuroanatomy*. 2016; 10: 74.

Huerta, C., Sanchez-Ferrero, E., Coto, E., Blazquez, M., Ribacoba, R., Guisasola, L. M., Alvarez, V. No association between parkinson's disease and three polymorphisms in the enos, nnos, and inos genes. *Neuroscience letters*. 2007; 413 (3): 202-205.

Hunot, S., Boissiere, F., Faucheux, B., Brugg, B., Mouatt-Prigent, A., Agid, Y., & Hirsch, E. C. Nitric oxide synthase and neuronal vulnerability in parkinson's disease. *Neuroscience*. 1996; 72 (2): 355-363.

Hwang, O. Role of oxidative stress in parkinson's disease. *Exp Neurobiol*. 2013; 22 (1): 11-17.

Hyun, D.-H., Lee, M.-H., Halliwell, B., & Jenner, P. Proteasomal dysfunction induced by 4-hydroxy-2,3-trans-nonenal, an end-product of lipid peroxidation: A mechanism contributing to neurodegeneration? *Journal of neurochemistry*. 2002; 83 (2): 360-370.

Iaccarino, C., Crosio, C., Vitale, C., Sanna, G., Carri, M. T., & Barone, P. Apoptotic mechanisms in mutant lrrk2-mediated cell death. *Human molecular genetics*. 2007; 16 (11): 1319-1326.

Iancu, R., Mohapel, P., Brundin, P., & Paul, G. Behavioral characterization of a unilateral 6-ohda-lesion model of parkinson's disease in mice. *Behavioural Brain Research*. 2005; 162 (1): 1-10.

Im, H.-I., Joo, W. S., Nam, E., Lee, E.-s., Hwang, Y.-j., & Kim, Y. S. Baicalein prevents 6-hydroxydopamine-induced dopaminergic dysfunction and lipid peroxidation in mice. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2005; 98 (2): 185-189.

Islam, M. T. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. *Neurological research*. 2017; 39 (1): 73-82.

Itoh, A., Isoda, K., Kondoh, M., Kawase, M., Kobayashi, M., Tamesada, M., & Yagi, K. Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on concanavalin a-induced liver injury. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2009; 32 (7): 1215-1219.

Jalewa, J., Sharma, M. K., Gengler, S., & Hölscher, C. A novel glp-1/gip dual receptor agonist protects from 6-ohda lesion in a rat model of parkinson's disease. *Neuropharmacology*. 2017; 117: 238-248.

Jankovic, J. Parkinson's disease: Clinical features and diagnosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 2008; 79 (4): 368-376.

Jenner, P. Oxidative stress in parkinson's disease. *Annals of neurology*. 2003; 53 Suppl 3: S26-36; discussion S36-28.

Jones, B. J., & Roberts, D. J. The quantiative measurement of motor inco-ordination in naive mice using an acelerating rotarod. *The Journal of pharmacy and pharmacology*. 1968; 20 (4): 302-304.

Jose, P. A., Eisner, G. M., & Felder, R. A. Role of dopamine receptors in the kidney in the regulation of blood pressure. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2002; 11 (1): 87-92.

Jung, K. H., Chu, K., Lee, S. T., Park, H. K., Kim, J. H., Kang, K. M., . . . Roh, J. K. Augmentation of nitrite therapy in cerebral ischemia by nmda receptor inhibition. *Biochemical and biophysical research communications*. 2009; 378 (3): 507-512.

Kalia, L. V., Brothie, J. M., & Fox, S. H. Novel nondopaminergic targets for motor features of parkinson's disease: Review of recent trials. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*. 2013; 28 (2): 131-144.

Kalia, L. V., & Lang, A. E. Parkinson's disease. *Lancet (London, England)*. 2015; 386 (9996): 896-912.

Kaminska, K., Lenda, T., Konieczny, J., Czarnecka, A., & Lorenc-Koci, E. Depressive-like neurochemical and behavioral markers of parkinson's disease after 6-ohda administered unilaterally to the rat medial forebrain bundle. *Pharmacological reports : PR*. 2017; 69 (5): 985-994.

Kampa, M., Alexaki, V.-I., Notas, G., Nifli, A.-P., Nistikaki, A., Hatzoglou, A., . . . Castanas, E. Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on t47d human breast cancer cells: Potential mechanisms of action. *Breast Cancer Research*. 2003; 6 (2): R63.

Kang, Y. C., Kim, P. K., Choi, B. M., Chung, H. T., Ha, K. S., Kwon, Y. G., & Kim, Y. M. Regulation of programmed cell death in neuronal cells by nitric oxide. *In vivo* (Athens, Greece). 2004; 18 (3): 367-376.

Karimi-Moghadam, A., Charsouei, S., Bell, B., & Jabalameli, M. R. Parkinson disease from mendelian forms to genetic susceptibility: New molecular insights into the neurodegeneration process. *Cell Mol Neurobiol*. 2018; 38 (6): 1153-1178.

Khan, M. M., Ahmad, A., Ishrat, T., Khan, M. B., Hoda, M. N., Khuwaja, G., . . . Islam, F. Resveratrol attenuates 6-hydroxydopamine-induced oxidative damage and dopamine depletion in rat model of parkinson's disease. *Brain research*. 2010; 1328: 139-151.

Kim, I. H., Yan, B. C., Park, J. H., Yeun, G. H., Yim, Y., Ahn, J. H., . . . Won, M. H. Neuroprotection of a novel synthetic caffeic acid-syringic acid hybrid compound against experimentally induced transient cerebral ischemic damage. *Planta medica*. 2013; 79 (5): 313-321.

Kim, K.-H., Tsao, R., Yang, R., & Cui, S. W. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*. 2006; 95 (3): 466-473.

Kim, W. G., Mohney, R. P., Wilson, B., Jeohn, G. H., Liu, B., & Hong, J. S. Regional difference in susceptibility to lipopolysaccharide-induced neurotoxicity in the rat brain: Role of microglia. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2000; 20 (16): 6309-6316.

Kita, H., & Kitai, S. T. Efferent projections of the subthalamic nucleus in the rat: Light and electron microscopic analysis with the pha-l method. *Journal of Comparative Neurology*. 1987; 260 (3): 435-452.

Klein, M. O., Battagello, D. S., Cardoso, A. R., Hauser, D. N., Bittencourt, J. C., & Correa, R. G. Dopamine: Functions, signaling, and association with neurological diseases. *Cell Mol Neurobiol*. 2019; 39 (1): 31-59.

Knowles, R. G., & Moncada, S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J*. 1994; 298 (Pt 2) (Pt 2): 249-258.

Kordower, J. H., Olanow, C. W., Dodiya, H. B., Chu, Y., Beach, T. G., Adler, C. H., . . . Bartus, R. T. Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in parkinson's disease. *Brain : a journal of neurology*. 2013; 136 (Pt 8): 2419-2431.

Kouli, A., Torsney, K. M., & Kuan, W. L. (2018). Parkinson's disease: Etiology, neuropathology, and pathogenesis. In T. B. Stoker & J. C. Greenland (Eds.), *Parkinson's disease: Pathogenesis and clinical aspects*. Brisbane (AU): Codon Publications
Copyright: The Authors.

Kroemer, G., Marino, G., & Levine, B. Autophagy and the integrated stress response. *Molecular cell*. 2010; 40 (2): 280-293.

Kulich, S. M., Horbinski, C., Patel, M., & Chu, C. T. 6-hydroxydopamine induces mitochondrial erk activation. *Free Radical Biology and Medicine*. 2007; 43 (3): 372-383.

Kumar, A., Sharma, N., Gupta, A., Kalonia, H., & Mishra, J. Neuroprotective potential of atorvastatin and simvastatin (hmg-coa reductase inhibitors) against 6-hydroxydopamine (6-ohda) induced parkinson-like symptoms. *Brain research*. 2012; 1471: 13-22.

Kumar, S., Prahalathan, P., & Raja, B. Syringic acid ameliorates (l)-name-induced hypertension by reducing oxidative stress. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2012; 385 (12): 1175-1184.

Kuriyama, I., Nakajima, Y., Nishida, H., Konishi, T., Takeuchi, T., Sugawara, F., . . . Mizushima, Y. Inhibitory effects of low molecular weight polyphenolics from inonotus

obliquus on human DNA topoisomerase activity and cancer cell proliferation. *Mol Med Rep.* 2013; 8 (2): 535-542.

Lai, B. C., Marion, S. A., Teschke, K., & Tsui, J. K. Occupational and environmental risk factors for parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2002; 8 (5): 297-309.

Langston, J. W., Ballard, P., Tetrud, J. W., & Irwin, I. Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science (New York, N.Y.).* 1983; 219 (4587): 979-980.

Lawler, C. P., Gilmore, J. H., Watts, V. J., Walker, Q. D., Southerland, S. B., Cook, L. L., Mailman, R. B. Interhemispheric modulation of dopamine receptor interactions in unilateral 6-ohda rodent model. *Synapse (New York, N.Y.).* 1995; 21 (4): 299-311.

Lee, M.-H., Kang, H., Lee, K., Yang, G., Ham, I., Bu, Y., . . . Choi, H.-Y. The aerial part of taraxacum coreanum extract has an anti-inflammatory effect on peritoneal macrophages in vitro and increases survival in a mouse model of septic shock. *Journal of Ethnopharmacology.* 2013; 146 (1): 1-8.

Lee, M.-H., Song, S.-H., Ham, I.-H., Bu, Y.-M., Kim, H.-C., & Choi, H.-Y. 국산 5종 포공영(蒲公英)의 항염 효과 및 성분 함량 비교 연구. [Anti-inflammatory effect and contents from the aerial part and root of the various Taraxacum spp. distributed in Korea]. 2010; 25.

Lees, A. J., Tolosa, E., & Olanow, C. W. Four pioneers of l-dopa treatment: Arvid carlsson, oleh hornykiewicz, george cotzias, and melvin yahr. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society.* 2015; 30 (1): 19-36.

Li, M., Dai, F.-r., Du, X.-p., Yang, Q.-d., & Chen, Y. Neuroprotection by silencing inos expression in a 6-ohda model of parkinson's disease. *Journal of Molecular Neuroscience.* 2012; 48 (1): 225-233.

Liu, J., Liu, W., Li, R., & Yang, H. Mitophagy in parkinson's disease: From pathogenesis to treatment. *Cells.* 2019; 8 (7): 712.

Liu, J. Y., Timm, D. E., & Hurley, T. D. Pyriithiamine as a substrate for thiamine pyrophosphokinase. *The Journal of biological chemistry*. 2006; 281 (10): 6601-6607.

Luo, D., Zhao, J., Cheng, Y., Lee, S. M.-Y., & Rong, J. N-propargyl caffeamide (paca) ameliorates dopaminergic neuronal loss and motor dysfunctions in mptp mouse model of parkinson's disease and in mpp⁺-induced neurons via promoting the conversion of prongf to ngf. *Molecular neurobiology*. 2018; 55 (3): 2258-2267.

Magalingam, K. B., Radhakrishnan, A., & Haleagrahara, N. Protective effects of flavonol isoquercitrin, against 6-hydroxy dopamine (6-ohda) - induced toxicity in pc12 cells. *BMC Research Notes*. 2014; 7 (1): 49.

Martino, R., Candundo, H., Lieshout, P. V., Shin, S., Crispo, J. A. G., & Barakat-Haddad, C. Onset and progression factors in parkinson's disease: A systematic review. *Neurotoxicology*. 2017; 61: 132-141.

Matějčíček, D., Klejdus, B., Mikeš, O., Štěrbová, D., & Kubáň, V. Application of solid-phase extraction for determination of phenolic compounds in barrique wines. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2003; 377 (2): 340-345.

MatÉs, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*. 1999; 32 (8): 595-603.

McDonald, C., Gordon, G., Hand, A., Walker, R. W., & Fisher, J. M. 200 years of parkinson's disease: What have we learnt from james parkinson? *Age and ageing*. 2018; 47 (2): 209-214.

McGeer, P. L., Itagaki, S., Boyes, B. E., & McGeer, E. G. Reactive microglia are positive for hla- dr in the substantia nigra of parkinson's and alzheimer's disease brains. *Neurology*. 1988; 38 (8): 1285-1285.

Mehta, A., Prabhakar, M., Kumar, P., Deshmukh, R., & Sharma, P. L. Excitotoxicity: Bridge to various triggers in neurodegenerative disorders. *European journal of pharmacology*. 2013; 698 (1-3): 6-18.

Mendonca, D. A., & Jog, M. S. Tasks of attention augment rigidity in mild parkinson disease. *The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques*. 2008; 35 (4): 501-505.

Meredith, G. E., & Kang, U. J. Behavioral models of parkinson's disease in rodents: A new look at an old problem. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*. 2006a; 21 (10): 1595-1606.

Meredith, G. E., & Kang, U. J. Behavioral models of parkinson's disease in rodents: A new look at an old problem. *Movement Disorders*. 2006b; 21 (10): 1595-1606.

Mirza, A. C., & Panchal, S. S. Safety evaluation of syringic acid: Subacute oral toxicity studies in wistar rats. *Heliyon*. 2019; 5 (8): e02129-e02129.

Mogi, M., Togari, A., Kondo, T., Mizuno, Y., Komure, O., Kuno, S., . . . Nagatsu, T. Caspase activities and tumor necrosis factor receptor r1 (p55) level are elevated in the substantia nigra from parkinsonian brain. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*. 2000; 107 (3): 335-341.

Morton, L. W., Croft, K. D., Puddey, I. B., & Byrne, L. Phenolic acids protect low density lipoproteins from peroxynitrite-mediated modification in vitro. *Redox report : communications in free radical research*. 2000; 5 (2-3): 124-125.

Mulvihill, K. G. Presynaptic regulation of dopamine release: Role of the dat and vmat2 transporters. *Neurochemistry international*. 2019; 122: 94-105.

Nagarajan, S., Chellappan, D. R., Chinnaswamy, P., & Thulasingham, S. Ferulic acid pretreatment mitigates mptp-induced motor impairment and histopathological alterations in c57bl/6 mice. *Pharmaceutical biology*. 2015; 53 (11): 1591-1601.

Nakamura, K., Nemani, V. M., Azarbal, F., Skibinski, G., Levy, J. M., Egami, K., . . . Edwards, R. H. Direct membrane association drives mitochondrial fission by the parkinson disease-associated protein alpha-synuclein. *The Journal of biological chemistry*. 2011; 286 (23): 20710-20726.

Nathan, C. F., & Hibbs, J. B., Jr. Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. *Current opinion in immunology*. 1991; 3 (1): 65-70.

Ogut, E., Sekerci, R., Akcay, G., Yildirim, F. B., Derin, N., Aslan, M., & Sati, L. Protective effects of syringic acid on neurobehavioral deficits and hippocampal tissue damages induced by sub-chronic deltamethrin exposure. *Neurotoxicology and teratology*. 2019; 76: 106839.

Okuno, T., Nakatsuji, Y., Kumanogoh, A., Moriya, M., Ichinose, H., Sumi, H., . . . Sakoda, S. Loss of dopaminergic neurons by the induction of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 via cd 40: Relevance to parkinson's disease. *Journal of neuroscience research*. 2005; 81 (6): 874-882.

Olanow, C. W. The pathogenesis of cell death in parkinson's disease--2007. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*. 2007; 22 Suppl 17: S335-342.

Pacher, P., Beckman, J. S., & Liaudet, L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological reviews*. 2007; 87 (1): 315-424.

Pandya, M., Kubu, C. S., & Giroux, M. L. Parkinson disease: Not just a movement disorder. *Cleveland Clinic journal of medicine*. 2008; 75 (12): 856-864.

Pannu, R., & Singh, I. Pharmacological strategies for the regulation of inducible nitric oxide synthase: Neurodegenerative versus neuroprotective mechanisms. *Neurochemistry international*. 2006; 49 (2): 170-182.

Panov, A., Dikalov, S., Shalbuyeva, N., Taylor, G., Sherer, T., & Greenamyre, J. T. Rotenone model of parkinson disease: Multiple brain mitochondria dysfunctions after short term systemic rotenone intoxication. *The Journal of biological chemistry*. 2005; 280 (51): 42026-42035.

Papa, S., Martino, P. L., Capitanio, G., Gaballo, A., De Rasmio, D., Signorile, A., & Petruzzella, V. The oxidative phosphorylation system in mammalian mitochondria. *Advances in experimental medicine and biology*. 2012; 942: 3-37.

Paramás, A. M. G., Bárez, J. A. G., Marcos, C. C., García-Villanova, R. J., & Sánchez, J. S. Hplc-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). *Food Chemistry*. 2006; 95 (1): 148-156.

Parkinson, J. An essay on the shaking palsy. 1817. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2002; 14 (2): 223-236; discussion 222.

Parlak, H., Ozkan, A., Dilmac, S., Tanriover, G., Ozsoy, O., & Agar, A. Neuronal nitric oxide synthase phosphorylation induced by docosahexaenoic acid protects dopaminergic neurons in an experimental model of parkinson's disease. *Folia Histochem Cytobiol*. 2018; 56 (1): 27-37.

Paxinos, G., Watson, C., Pennisi, M., & Topple, A. Bregma, lambda and the interaural midpoint in stereotaxic surgery with rats of different sex, strain and weight. *J Neurosci Methods*. 1985; 13 (2): 139-143.

Perlberg, V., Lambert, J., Butler, B., Felfli, M., Valabrègue, R., Privat, A.-L., . . . Petiet, A. Alterations of the nigrostriatal pathway in a 6-ohda rat model of parkinson's disease evaluated with multimodal mri. *PloS one*. 2018; 13 (9): e0202597-e0202597.

Perumal, A. S., Gopal, V. B., Tordzro, W. K., Cooper, T. B., & Cadet, J. L. Vitamin e attenuates the toxic effects of 6-hydroxydopamine on free radical scavenging systems in rat brain. *Brain Research Bulletin*. 1992; 29 (5): 699-701.

Pringsheim, T., Jette, N., Frolkis, A., & Steeves, T. D. The prevalence of parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*. 2014; 29 (13): 1583-1590.

PubChem. National center for biotechnology information. . Dopamine, cid=681, . Retrieved from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dopamine>

PubChem. Syringic acid, cid=10742. National Center for Biotechnology Information. .

Rekha, K. R., Selvakumar, G. P., & Sivakamasundari, R. I. Effects of syringic acid on chronic mptp/probenecid induced motor dysfunction, dopaminergic markers expression

and neuroinflammation in c57bl/6 mice. *Biomedicine & Aging Pathology*. 2014; 4 (2): 95-104.

Riley, D., Lang, A. E., Blair, R. D., Birnbaum, A., & Reid, B. Frozen shoulder and other shoulder disturbances in parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1989; 52 (1): 63-66.

Rozas, G., & Labandeira Garcia, J. L. Drug-free evaluation of rat models of parkinsonism and nigral grafts using a new automated rotarod test. *Brain research*. 1997; 749 (2): 188-199.

Saha, R. N., & Pahan, K. Regulation of inducible nitric oxide synthase gene in glial cells. *Antioxidants & redox signaling*. 2006; 8 (5-6): 929-947.

Saito, Y., Nishio, K., Ogawa, Y., Kinumi, T., Yoshida, Y., Masuo, Y., & Niki, E. Molecular mechanisms of 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity in pc12 cells: Involvement of hydrogen peroxide-dependent and -independent action. *Free Radical Biology and Medicine*. 2007; 42 (5): 675-685.

Samii, A., Nutt, J. G., & Ransom, B. R. Parkinson's disease. *Lancet (London, England)*. 2004a; 363 (9423): 1783-1793.

Samii, A., Nutt, J. G., & Ransom, B. R. Parkinson's disease. *The Lancet*. 2004b; 363 (9423): 1783-1793.

Schallert, T., Whishaw, I. Q., De Ryck, M., & Teitelbaum, P. The postures of catecholamine-depletion catalepsy: Their possible adaptive value in thermoregulation. *Physiology & Behavior*. 1978; 21 (5): 817-820.

Schober, A. Classic toxin-induced animal models of parkinson's disease: 6-ohda and mptp. *Cell and Tissue Research*. 2004; 318 (1): 215-224.

Schrag, A., Horsfall, L., Walters, K., Noyce, A., & Petersen, I. Prediagnostic presentations of parkinson's disease in primary care: A case-control study. *The Lancet. Neurology*. 2015; 14 (1): 57-64.

Schwartz, R. K. W., & Huston, J. P. The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. *Progress in neurobiology*. 1996; 50 (2): 275-331.

Shimohama, S., Sawada, H., Kitamura, Y., & Taniguchi, T. Disease model: Parkinson's disease. *Trends in molecular medicine*. 2003; 9 (8): 360-365.

Sian, J., Dexter, D. T., Lees, A. J., Daniel, S., Jenner, P., & Marsden, C. D. Glutathione-related enzymes in brain in parkinson's disease. *Annals of neurology*. 1994; 36 (3): 356-361.

Srinivasan, J., & Schmidt, W. J. The effect of the α 2-adrenoreceptor antagonist idazoxan against 6-hydroxydopamine-induced parkinsonism in rats: Multiple facets of action? *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2004; 369 (6): 629-638.

Srinivasulu, C., Ramgopal, M., Ramanjaneyulu, G., Anuradha, C. M., & Suresh Kumar, C. Syringic acid (sa) – a review of its occurrence, biosynthesis, pharmacological and industrial importance. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018; 108: 547-557.

Stanikunaite, R., Khan, S. I., Trappe, J. M., & Ross, S. A. Cyclooxygenase-2 inhibitory and antioxidant compounds from the truffle *elaphomyces granulatus*. *Phytotherapy Research*. 2009; 23 (4): 575-578.

Stefani, A., Pierantozzi, M., Olivola, E., Galati, S., Cerroni, R., D'Angelo, V., . . . Liguori, C. Homovanillic acid in csf of mild stage parkinson's disease patients correlates with motor impairment. *Neurochemistry international*. 2017; 105: 58-63.

Stoker, T. B., & Greenland, J. C. (2018). Parkinson's disease: Pathogenesis and clinical aspects. In T. B. Stoker & J. C. Greenland (Eds.), *Parkinson's disease: Pathogenesis and clinical aspects*. Brisbane (AU): Codon Publications Copyright (c) 2018 Codon Publications.

Struzyna, L. A., Browne, K. D., Brodnik, Z. D., Burrell, J. C., Harris, J. P., Chen, H. I., . . . Cullen, D. K. Tissue engineered nigrostriatal pathway for treatment of parkinson's

disease. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. 2018; 12 (7): 1702-1716.

Sulzer, D., & Zecca, L. Intraneuronal dopamine-quinone synthesis: A review. *Neurotoxicity Research*. 1999; 1 (3): 181-195.

Tanaka, T., Kawaguchi, N., Zaima, N., Moriyama, T., Fukuta, Y., & Shirasaka, N. Antiosteoporotic activity of a syringic acid diet in ovariectomized mice. *Journal of natural medicines*. 2017; 71 (4): 632-641.

Taylor, J. M., Main, B. S., & Crack, P. J. Neuroinflammation and oxidative stress: Co-conspirators in the pathology of parkinson's disease. *Neurochemistry international*. 2013; 62 (5): 803-819.

Tokmak, M., Yuksel, Y., Sehitoglu, M. H., Guven, M., Akman, T., Aras, A. B., . . . Abbed, K. M. The neuroprotective effect of syringic acid on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rats. *Inflammation*. 2015a; 38 (5): 1969-1978.

Tokmak, M., Yuksel, Y., Sehitoglu, M. H., Guven, M., Akman, T., Aras, A. B., . . . Abbed, K. M. The neuroprotective effect of syringic acid on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rats. *Inflammation*. 2015b; 38 (5): 1969-1978.

Tompkins, M. M., Basgall, E. J., Zamrini, E., & Hill, W. D. Apoptotic-like changes in lewy-body-associated disorders and normal aging in substantia nigral neurons. *The American journal of pathology*. 1997; 150 (1): 119-131.

Torreilles, F., Salman-Tabcheh, S., Guerin, M., & Torreilles, J. Neurodegenerative disorders: The role of peroxynitrite. *Brain research. Brain research reviews*. 1999; 30 (2): 153-163.

Tsai, C. F., Kuo, Y. H., Yeh, W. L., Wu, C. Y., Lin, H. Y., Lai, S. W., . . . Lu, D. Y. Regulatory effects of caffeic acid phenethyl ester on neuroinflammation in microglial cells. *International journal of molecular sciences*. 2015; 16 (3): 5572-5589.

Uchida, K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. *Free radical biology & medicine*. 2000; 28 (12): 1685-1696.

Ungerstedt, U. 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *European journal of pharmacology*. 1968; 5 (1): 107-110.

Urso, M. L., & Clarkson, P. M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*. 2003; 189 (1-2): 41-54.

Verstraeten, A., Theuns, J., & Van Broeckhoven, C. Progress in unraveling the genetic etiology of parkinson disease in a genomic era. *Trends in genetics : TIG*. 2015; 31 (3): 140-149.

Wang, X., Tang, S., Zhai, H., & Duan, H. [studies on anti-tumor metastatic constituents from *ardisia crenata*]. *Zhongguo Zhong yao za zhi = Zhongguo zhongyao zazhi = China journal of Chinese materia medica*. 2011; 36 (7): 881-885.

Weintraub, D., Comella, C. L., & Horn, S. Parkinson's disease--part 1: Pathophysiology, symptoms, burden, diagnosis, and assessment. *The American journal of managed care*. 2008; 14 (2 Suppl): S40-48.

Whitton, P. S. Inflammation as a causative factor in the aetiology of parkinson's disease. *British journal of pharmacology*. 2007; 150 (8): 963-976.

Wink, D. A., Kasprzak, K. S., Maragos, C. M., Elespuru, R. K., Misra, M., Dunams, T. M., . . . Keefer, L. K. DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors. *Science (New York, N.Y.)*. 1991; 254 (5034): 1001-1003.

Winklhofer, K. F., & Haass, C. Mitochondrial dysfunction in parkinson's disease. *Biochimica et biophysica acta*. 2010; 1802 (1): 29-44.

Wong, P. C., Cai, H., Borchelt, D. R., & Price, D. L. Genetically engineered mouse models of neurodegenerative diseases. *Nature neuroscience*. 2002; 5 (7): 633-639.

Wu, X., Liu, Y., Sheng, W., Sun, J., & Qin, G. Chemical constituents of isatis indigotica. *Planta medica*. 1997; 63 (1): 55-57.

Yadava, N., & Nicholls, D. G. Spare respiratory capacity rather than oxidative stress regulates glutamate excitotoxicity after partial respiratory inhibition of mitochondrial complex i with rotenone. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2007; 27 (27): 7310-7317.

Yan, J., Fu, Q., Cheng, L., Zhai, M., Wu, W., Huang, L., & Du, G. Inflammatory response in parkinson's disease (review). *Mol Med Rep*. 2014; 10 (5): 2223-2233.

Yan, S.-l., Wang, Z.-h., Yen, H.-f., Lee, Y.-j., & Yin, M.-c. Reversal of ethanol-induced hepatotoxicity by cinnamic and syringic acids in mice. *Food and Chemical Toxicology*. 2016; 98: 119-126.

Yildirim, F. B., Ozsoy, O., Tanriover, G., Kaya, Y., Ogut, E., Gemici, B., . . . Aslan, M. Mechanism of the beneficial effect of melatonin in experimental parkinson's disease. *Neurochemistry international*. 2014; 79: 1-11.

Yoritaka, A., Hattori, N., Uchida, K., Tanaka, M., Stadtman, E. R., & Mizuno, Y. Immunohistochemical detection of 4-hydroxynonenal protein adducts in parkinson disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996; 93 (7): 2696-2701.

Youdim, M. B. H., & Riederer, P. Understanding parkinson's disease. *Scientific American*. 1997; 276 (1): 52-59.

Yuan, H., Sarre, S., Ebinger, G., & Michotte, Y. Histological, behavioural and neurochemical evaluation of medial forebrain bundle and striatal 6-ohda lesions as rat models of parkinson's disease. *Journal of Neuroscience Methods*. 2005; 144 (1): 35-45.

Zhang, H.-N., An, C.-N., Zhang, H.-N., & Pu, X.-P. Protocatechuic acid inhibits neurotoxicity induced by mptp in vivo. *Neuroscience letters*. 2010; 474 (2): 99-103.

Zhao, X., Zhai, S., An, M. S., Wang, Y. H., Yang, Y. F., Ge, H. Q., . . . Pu, X. P. Neuroprotective effects of protocatechuic aldehyde against neurotoxin-induced cellular and animal models of parkinson's disease. PloS one. 2013; 8 (10): e78220.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Özge	Uyruğu	T.C.
Soyadı	GÜZELAD	Tel no	05357974850
Doğum tarihi	17.09.1995	e-posta	ozgguzelad@gmail.com

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Adana İMKB Anadolu Öğretmen Lisesi	2013
Lisans	Dokuz Eylül Üniversitesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksekokulu - Fizyoterapi ve Rehabilitasyon	2017
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi - Anatomi Anabilim Dalı	2018-Devam ediyor

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	YÖKDİL	72,5

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Deneyisel Parkinson Modelinde Sirinjik Asidin Koruyucu Etki Mekanizmasının Araştırılması	BAP Yüksek Lisans Projesi TYL-2019-4783	2019-2020

Yayınlar ve Bildiriler:

Güzelad Ö., Yıldırım F.B., ‘Morphology of C2 vertebra lamina and its surgical importance’, 20th National Anatomy Congress, İstanbul, TÜRKİYE, 27-31 Ağustos 2019, cilt. 13, no. 2, ss. 183-184

Yıldırım F.B., Güzelad Ö., Öğüt E., ‘Accessory transverse foramina’ 19th National Anatomy Congress & 1st International Mediterranean Anatomy Congress, Konya, TÜRKİYE, 6-9 Eylül 2018, cilt. 12, no. 2, ss. 200

Güzelad Ö., Öğüt E., Yıldırım F.B., ‘Does parietal foramen varies between gender?’,

19th National Anatomy Congress & 1st International Mediterranean Anatomy Congress, Konya, TÜRKİYE, 6-9 Eylül 2018, cilt. 12, no. 2, ss. 201

Öğüt E., Güzelad Ö., Yıldırım F.B., ‘The effect of cranial index on gender’, 19th National Anatomy Congress & 1st International Mediterranean Anatomy Congress, Konya, TÜRKİYE, 6-9 Eylül 2018, cilt. 12, no. 2, ss. 201

Güzelad Ö., Yıldırım F.B., Süzen L.B., ‘Place of the glenoid cavity in the reverse shoulder arthroplasty’, 19th National Anatomy Congress & 1st International Mediterranean Anatomy Congress, Konya, TÜRKİYE, 6-9 Eylül 2018, cilt. 12, no. 2, ss. 225

Bilimsel Faaliyetler

20. Ulusal Anatomi Kongresi, İstanbul, Eylül 2019.

Dünya Ağrı Enstitüsü Türkiye Şubesi Girişimsel Yöntemler Kadavra Kursu, Antalya, Mart 2019.

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, Antalya, Ocak 2019.

I. Uluslararası Akdeniz Anatomi Kongresi (IMAC2018) – 19. Ulusal Anatomi Kongresi, Konya, Eylül 2018.

Temel Artroskopik Kursu, Antalya, Nisan 2018.

Sporda Omuz Yaralanmalarında Güncel Yaklaşımlar, İzmir, Mayıs 2016.

I. Multiple Skleroz’da Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Sempozyumu, İzmir, Mart 2016.

VIII. Ulusal Spor Fizyoterapistleri Kongresi, Kas-Tendon-Bağ Yaralanmalarında Rehabilitasyon, İzmir, Kasım 2015.