

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Fizyoloji Anabilim Dalı

DENEYSEL PARKİNSON HASTALIĞININ
GÖRSEL UYARILMA POTANSİYELLERİNDE
OLUŞTURDUĞU DEĞİŞİKLİKLERE
DOKOSAHEKSAENOİK ASİT (DHA)' İN ETKİSİ
ve MEKANİZMASI

Özlem KÖSE

Yüksek Lisans Tezi

Antalya, 2006

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTUSÜ
Fizyoloji Anabilim Dalı**

**DENEYSEL PARKİNSON HASTALIĞININ
GÖRSEL UYARILMA POTANSİYELLERİNDE
OLUŞTURDUĞU DEĞİŞİKLİKLERE
DOKOSAHEKSAENOİK ASİT (DHA)' İN ETKİSİ
ve MEKANİZMASI**

Özlem KÖSE

Yüksek Lisans Tezi

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Aysel AĞAR**

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2004.02.0122.016)

“Kaynakça Gösterilerek Tezinden Yararlanılabilir”

Antalya , 2006

Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışmaya, jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 25/07/2006

Tez danışmanı Prof. Dr. Aysel AÇAR
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Oğuz Kerim BAŞKURT
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Ümit Kemal ŞENTÜRK
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. V. Nimet UYSAL
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Mutay ASLAN
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyofizik Bilim Dalı

ONAY:

Bu tez, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../2006 tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nurettin Oğuz
Enstitü Müdürü

ÖZET

Parkinson hastalığı (PH), substansia nigra (SN)'daki dopaminerjik nöronların seçici kaybı ve ilerleyici motor yetersizlik ile karakterize bir hastalıktır. Bu hastalıkta görsel uyarlama potansiyelleri (VEPs)'nde görülen değişiklikler, görsel sistemin önemli ölçüde etkilendiğinin göstergesidir. Ancak PH'da VEP latenslerinin uzamasının mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Doymamış yağ asitleri (PUFA)'nin nöral ve retinal dokularda önemli fonksiyonları vardır. Dokosaheksaenoik Asit (DHA), beyin membranlarının fosfolipid tabakasında bulunan ve hücre fonksiyon için gerekli olan temel PUFA'dır. PH'da serbest radikallerin artışıyla birlikte hücre membranındaki PUFA konsantrasyonunda önemli bir azalma olmaktadır. PUFA'yı içeren bir diyetin alınması, bu hastalıkla ilgili değişikliklerin ortaya çıkmasını engelleyebilir veya geciktirebilir. Çalışmanın amacı, deneysel Parkinson modeli oluşturulan farelerde meydana gelen VEP değişikliklerine DHA'nın düzeltici etkisinin olup olmadığını araştırmak ve bu olası etkiye lipid peroksidasyon (L.P) ve antioksidan enzimlerin rolünü aydınlatmaktır.

10 aylık erkek C57Bl/6 fareler rasgele olarak 4 gruba ayrılmıştır: Kontrol (K) grubu, DHA verilen grup (D), deneysel Parkinson oluşturulan grup (P), deneysel Parkinson oluşturulan + DHA verilen grup (PD). DHA (36mg/kg/gün), 4 hafta boyunca gavaj yoluyla uygulanmıştır. Deneysel Parkinson modeli, MPTP (1-metil-4-fenil 1,2,3,6 tetrahidropiridin) nörotoksini (4x20mg/kg, 12 saat aralıklarla, ip) ile oluşturulmuştur. Motor aktivite çubuk testi ile, SN'deki dopaminerjik hücre ölümü ise Tirozin Hidroksilaz (TH) immünreaktif hücrelerin immünohistokimyasal analizi ile tespit edilmiştir. VEP'ler hayvanların kafalarına deri altı yerleştirilen iğne elektrodları ile kaydedilmiştir. Beyin ve retina Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle saptanmıştır. Oksidatif hasar göstergesi olarak ise Tiyobarbitürik Asit Reaktif Madde (TBARS) düzeyi spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür.

P grubunda motor aktivitenin azaldığı tespit edilmiş ancak PD grubunda bir düzelmeye gözlenmemiştir. SN'deki dopaminerjik hücre ölümünün P grubunda arttığı, PD grubunda ise bu artış hafiflediği tespit edilmiştir. SOD enzim aktivitesinin beyinde, P ve PD gruplarında azaldığı, retinada etkilenmediği, CAT enzim aktivitesinin beyinde değişmediği, retinada D, P ve PD gruplarında azaldığı, GPx enzim aktivitesinin ise beyin ve retinada etkilenmediği tespit edilmiştir. TBARS düzeyinin beyinde P ve PD gruplarında arttığı, retinada ise değişmediği saptanmıştır. PH'da antioksidan enzim aktiviteleri ve TBARS düzeylerinde meydana gelen bu değişikliklere DHA'nın etki etmediği tespit edilmiştir. Diğer taraftan PH'da VEP latenslerinin önemli ölçüde uzadığı, bu uzama üzerine DHA alınmasının düzeltici etkisinin olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, MPTP ile oluşturulan deneysel fare Parkinson modelinde bozulan VEP latensleri üzerine DHA alınmasının düzeltici etkisinin varlığını kanıtlamakta ancak bu etkinin antioksidan enzimler ve L.P ile ilişkili olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Parkinson, MPTP, VEP, DHA, antioksidan enzimler, TBARS

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder characterized by progressive motor decline and loss of dopaminergic neurons from the substantia nigra (SN). Visual Evoked Potentials (VEPs) have been shown to be a sensitive marker in detecting optic pathway alterations associated with PD. The mechanism by which VEP latency prolongation occurs in PD is uncertain. Docosahexaenoic acid (DHA), a major polyunsaturated fatty acid (PUFA) found in the phospholipid fraction of the brain, is essential for normal neural and retinal function. Cell membrane PUFA concentrations significantly decrease in PD, in combination with an increase in free radical production. This study aimed to investigate the effect of DHA treatment on altered VEPs that occur in an experimental mice model of PD. Brain and retina lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities were also determined to elucidate possible consequences of DHA treatment.

Ten month old male mice were randomly divided into 4 groups as follows; control (C), DHA-treated (D), Parkinson induced (P), Parkinson induced + DHA-treated (P+D). DHA was given daily by gavage for 4 weeks at a dose of 36 mg/kg/day. Experimental model of Parkinson's disease was created by four ip injections of a neurotoxin, MPTP (1-metil, 4-fenil, 1,2,3,6-tetrahidropiridin), given at a dose of 4x20 mg/kg, with 12h intervals. Motor activity of mice was evaluated via the "pole test" and the dopaminergic cell death in SN were determined by immunohistochemical analysis of tyrosine hydroxylase (TH) immunopositive cell. VEPs were recorded with sub-dermal needle electrodes placed on the head. Brain and retina superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) enzyme activities were determined by spectrophotometric assays and the concentration of thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) were measured as an index of oxidative damage.

Dopaminergic cell death in SN, significantly increased in P mice compared to C. Although DHA treatment significantly diminished the increment of the cell death in the P+D group as compared to the P group, it did not improve decreased motor activity observed in experimental PD. Recorded VEP latencies were significantly prolonged in the P group compared to C. DHA treatment caused a significant decrease in VEP latencies in P+D group when compared to untreated P mice. Brain and retina GPx activity was found to be alike in all experimental groups. Although retina SOD activity remained similar in all groups, brain SOD activity was significantly decreased in P and P+D mice compared to C group. Brain CAT activity remained similar among all experimental groups, while retina CAT activity decreased in D, P and P+D groups. Brain TBARS levels were significantly increased in P and P+D groups compared to both C group. Retina TBARS levels showed no significant difference in the treatment groups compared to controls.

The current data shows that DHA treatment improves prolonged VEP latencies observed in experimental PD mice. The protective effect of DHA treatment on VEP alterations is not related to antioxidant enzyme activities and LP in PD.

Key words: Parkinson, MPTP, VEP, DHA, antioxidant enzymes, TBARS

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Dopamin ve Parkinson Hastalığı	3
2.1.1. Merkezi sinir sistemi nörotransmiteri: Dopamin	3
2.1.1.1. Dopamin ve ilişkili Patolojiler	5
2.1.2. Parkinson Hastalığı	6
2.1.2.1. Parkinson Hastalığının Nöroanatomik Mekanizmaları	6
2.1.2.2. Parkinson Hastalığının Etkileyen Faktörler	7
2.1.2.3. Parkinson Hastalığının Klinik Özellikleri	8
2.1.2.4. Parkinson Hastalığının Nörokimyasal ve Nöropatolojik Özellikleri	9
2.1.2.5. Parkinson Hastalığı Etiyolojisi	10
2.1.2.6. Parkinson Hastalığı Patogenezi	10
2.1.2.7. Parkinson Hastalığı Hayvan Modelleri	13
2.1.2.8. Parkinson Hastalığı ile İlgili Sonuçlar ve Gelecekteki Yönelimler	17
2.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi	17
2.2.1. Serbest Radikal Kavramı ve Oksijen Radikalleri	17
2.2.1.1. Serbest Radikal Kavramı	17
2.2.1.2. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidan Ajanlar	18

2.2.1.3.	Serbest Radikallerin Hücrelere Etkisi	22
2.2.2.	Antioksidan Savunma Sistemi	25
2.2.2.1.	Primer Antioksidan Savunma Sistemi	26
2.2.2.2.	Sekonder Antioksidan Savunma Sistemi	29
2.2.3.	Oksidatif Stres ve Nörodejenerasyon İlişkisi	29
2.3.	Görsel Sistem ve Görsel Uyarılma Potansiyelleri	30
2.3.1.	Görme Sistemi	30
2.3.1.1.	Görme Sisteminin Nöral Yolağı	33
2.3.2.	Görsel Uyarılma Potansiyelleri	34
2.3.2.1.	Görsel Uyarılma Potansiyellerinin Kaydı	34
2.3.2.2.	Görsel Uyarılma Potansiyellerini Etkileyen Faktörler	36
2.3.2.3.	Görsel Uyarılma Potansiyellerinin Önemi ve Kullanım Alanları	37
2.3.2.4.	Parkinson Hastalığı ve Görsel Sistem	37
2.4.	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri ve Dokosaheksaenoik Asit	38
2.4.1.	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri	38
2.4.2.	Dokosaheksaenoik Asit	40
2.4.2.1.	Dokosaheksaenoik Asit ve Sinir Sistemi	41
2.4.2.2.	Nöral Membranlara Dokosaheksaenoik Asit'in Etkisi	41
2.4.2.3.	Nörolojik Hastalıklarda Dokosaheksaenoik Asit Seviyesi	44
2.4.2.4.	Dokosaheksaenoik Asit ve Görsel Sistem	45
2.5.	Hipotez	45
GEREÇ ve YÖNTEM		46
3.1.	Gruplandırma	46
3.2.	Deney Protokolü	46
3.2.1.	DHA Uygulaması	46
3.2.2.	DeneySEL Parkinson Hastalığının Oluşturulması	46
3.3.	Parametreler	46

3.3.1.	Ağırlık Takibi	46
3.3.2.	Görsel Uyarılma Potansiyelleri (VEP)'nin Kaydedilmesi	47
3.3.3.	Motor Aktivite Tayini	47
3.3.4.	Deneğin Sonlandırılması ve Dokuların Çıkarılması	48
3.3.5.	Histolojik Analizler	48
3.3.5.1.	Hematoksilen-Eozin Boyama	49
3.3.5.2.	İmmünohistokimyasal Protokol	49
3.3.5.3.	Genel Görünüm ve İmmünoreaktivitenin Değerlendirilmesi	50
3.3.6.	Biyokimyasal Parametreler	50
3.3.6.1.	Dokuların Homojenizasyonu	50
3.3.6.2.	Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini	50
3.3.6.3.	Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Tayini	51
3.3.6.4.	Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivite Tayini	53
3.3.6.5.	Doku Tiyobarbitürik Asit Reaktif Ürünleri (TBARS)'nin Tayini	54
3.3.6.6.	Protein Tayini	54
3.4.	Sonuçların Değerlendirilmesi	55
BULGULAR		56
4.1.	Genel Görünüm	56
4.2.	Ağırlık Değişimi	56
4.3.	Motor Aktivite Tayini	56
4.4.	İmmünohistokimyasal Değerlendirmeler	57
4.4.1.	Genel Görünüm	57
4.4.2.	Tirozin Hidroksilaz Ekspresyonu	58
4.5.	Biyokimyasal Parametreler	59
4.5.1.	Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Sonuçları	60
4.5.1.1.	Beyin Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Sonuçları	60

4.5.1.2.	Retina Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Sonuçları	60
4.5.2.	Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Sonuçları	61
4.5.2.1.	Beyin Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Sonuçları	61
4.5.2.2.	Retina Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Sonuçları	61
4.5.3.	Glutatyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivite Sonuçları	62
4.5.3.1.	Beyin Glutatyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivite Sonuçları	62
4.5.3.2.	Retina Glutatyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivite Sonuçları	62
4.5.4.	Doku Tiyobarbitürik Asit Reaktif Ürünleri (TBARS) Sonuçları	63
4.5.4.1.	Beyin Tiyobarbitürik Asit Reaktif Ürünleri (TBARS) Sonuçları	63
4.5.4.2.	Retina Doku Tiyobarbitürik Asit Reaktif Ürünleri (TBARS) Sonuçları	63
4.5.5.	Görsel Uyarılma Potansiyelleri (VEP) Sonuçları	64
	TARTIŞMA	67
	SONUÇLAR	75
	KAYNAKLAR	76
	ÖZGEÇMİŞ	96

SİMGELER ve KISALTMALAR

¹O₂	: Tekil (singlet) Oksijen
4-HNE	: 4-Hidroksinonenal
6-OHDA	: 6-hidroksidopamin
8-OHDA	: 8-hidroksi-2' deoksiguanozin
AA	: Araşidonik Asit
AH	: Alzheimer Hastalığı
ALS	: Amiotrofik Lateral Skleroz
BBB	: Kan Beyin Bariyeri
BG	: Bazal Gangliyonlar
CAT	: Katalaz Enzimi
Cl₂	: Klorin Gazı
COMT	: Katekol-O-Metil Transferaz
CS	: Korpus Striatum
CSF	: Serebrospinal Sıvı
Cu/Zn-SOD	: Bakır/Çinko Bağumlu Süperoksit Dismutaz Enzimi
DA	: Dopamin
DAT	: Dopamin Taşıyıcısı
DHA	: Dokosaheksaenoik Asit
dLGN	: Dorsal Genikulat Çekirdek
DOPAC	: 3,4-Dihidroksifenil Asetik Asit
EFA	: Esansiyel Yağ Asitleri
EPA	: Ekosapentaenoik Asit
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
Fe⁺²	: Ferröz Demir
Fe⁺³	: Ferrik Demir
FEPs	: Flaş Uyarılma Potansiyelleri
GABA	: Gamma Amino Bütirik Asit
GC	: Guanilat Siklaz
GPe	: Globus Pallidus Eksternus
GPI	: Globus Pallidus İnternus

GPx	: Glutasyon Peroksidaz Enzimi
Gred	: Glutasyon Redüktaz Enzimi
GSH	: Redükte Glutasyon
GSSG	: Okside Glutasyon
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HO₂·	: Hidroperoksit
HOCl	: Hipoklorik Asit
HVA	: 3-Metoksi-4-Hidroksifenil Asetik Asit
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
iNOS	: İndüklebilir Nitrik Oksit Sentaz
L·	: Lipid Radikali
LA	: Linoleik Asit
LB	: Lewy Cisimciği
LC	: Lokus Korelus
L-DOPA	: L-3,4-dihidroksifenilalanin
LH	: Yağ Asiti
LNA	: α-linolenik Asit
LOO·	: Lipid Peroksil Radikali
LOOH	: Lipid Hidroperoksit
LP	: Lipid Peroksidasyon
LTB₄	: Lökotrien B ₄
LTD	: Uzun Dönem Depresyon
LTP	: Uzun Dönem Potentiasyon
M.A.M	: Marmara Araştırma Merkezi
MAO	: Monoamin Oksidaz Enzimi
MDA	: Malondialdehit
Mn-SOD	: Mangan Bağımlı Süperoksit Dismutaz Enzimi
MPDP⁺	: 1-metil-4-fenil-2,3-dihidroksipiridinyum
MPP⁺	: 1-metil-4-fenilpiridinum
MPPP	: 1-metil-4-fenil-4-propiyonoksipiperidin
MPTP	: 1-metil-4-fenil 1,2,3,6 tetrahidropiridin

MS	: Multiple Skleroz
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
MUFA	: Tekli Doymamış Yağ Asitleri
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Hidrojen Fosfat
NK	: Doğal Öldürücü
NM	: Nöromelanin
NMDA	: N-Metil D-Aspartat
nNOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz Enzimi
NO	: Nitrik Oksit
NO[•]	: Nitrik Oksit Radikali
NO₂	: Nitrit
NO₃	: Nitrat
NT	: Nörotransmitter
O₂	: Moleküler Oksijen
O₂^{•-}	: Süperoksit Radikali
O₂²⁻	: Peroksil Anyonu
O₃	: Ozon
OH⁻	: Hidroksil İyonu
•OH	: Hidroksil Radikali
ONOO⁻	: Peroksinitrit
OS	: Oksidatif Stres
PCD	: Programlanmış Hücre Ölümü
PGE₂	: Prostoglandin E ₂
PH	: Parkinson Hastalığı
PLA₂	: Fosfolipaz A ₂
PLC	: Fosfolipaz C
PlsEtn	: Plazmenilethanolamin
PREPs	: Patern Değişmeli Uyarılmış Potansiyeller
PtdCho	: Fosfatidilkolin
PtdEtn	: Fosfatidilethanolamin
PtdSer	: Fosfatidilserin
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

RO[•]	: Alkoksil Radikali
ROO[•]	: Peroksi Radikali
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SFA	: Doymuş Yağ Asitleri
SN	: Substansia Nigra
SNpc	: Substansia Nigra Pars Kompakta
SNpr	: Substansia Nigra Pars Retikülata
SOD	: Süperoksit Dismutaz Enzimi
STN	: Subtalamik Nükleus
SWEPs	: Patern Değişmeli Uyarılmış Potansiyeller
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Madde
TH	: Tirozin Hidroksilaz Enzimi
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör
UCH-L1	: Ubiquitin C-terminal Hidrolaz
VEP	: Görsel Uyarılma Potansiyelleri
Vit C[•]	: C Vitamini Radikali
VMAT-2	: Veziküler Monoamin Taşıyıcı-2
VTA	: Ventral Tegmental Alan

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. İnsan beyninde dopaminerjik yolak	3
2.2. DA metabolizması	5
2.3. PH'nın nöroanatomik mekanizmaları	7
2.4. SNpc dopaminerjik nöronları içerisinde T.B'ler	9
2.5. Nörodejenerasyonun mekanizması	11
2.6. MPTP metabolizmasının şematik gösterimi	14
2.7. ROS	18
2.8. Gözün yapısı	30
2.9. Retinal nöronların organizasyonu ve ışık retinada izlediği yol	31
2.10. Koni ve basillerin bölümleri	31
2.11. Retinal ve opsin	32
2.12. Retinanın nöral organizasyonu	33
2.13. PUFA Sentezi	38
2.14. DHA (A4,7,10,13,16,19-dokosahelzaenoik asit)'nin kimyasal yapısı	40
2.15. Beyinde DHA'nın nörokimyasal olaylar üzerine etkisi	41
3.1. Motor aktivite tayin yöntemi	48
3.2. SOD enzim aktivite tayin yöntemi	51
3.3. CAT enziminin enzimatik aktivitesi	51
3.4. CAT enzim aktivite tayin yöntemi	52
3.5. GPx enzim aktivite tayin yöntemi	53
4.1. Çubuk testi ile bradikinezi şiddetinin değerlendirilmesi	57
4.2. Hematoksilen-Eozin boyama	57
4.3. Deney gruplarında TIT için gözlenen immünreaktivite	59
4.4. Beyin SOD aktivite değerleri	60
4.5. Retina SOD aktivite değerleri	60
4.6. Beyin CAT aktivite değerleri	61
4.7. Retina CAT aktivite değerleri	61
4.8. Beyin GPx aktivite değerleri	62
4.9. Retina GPx aktivite değerleri	62

4.10.	Beyin TBARS değerleri	63
4.11.	Retina TBARS değerleri	63

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. VEP'leri etkileyen faktörler	36
4.1. Haftalara göre ağırlık değişimi	56
4.2. TII-pozitif dopaminergik nöron sayısı ve boyanma şiddeti	58
4.3. VEP'lerde gözlenen piklerin latens (ms) değerleri	65
4.4. VEP'lerde gözlenen tepeden tepeye amplitüd (μ V) değerleri	66

GİRİŞ

PTI, ilk kez 1817 yılında Dr. James Parkinson tarafından tanımlanmış (1) ilerleyici nitelikli nörodejeneratif bir hastalıktır. Bu hastalık, beynin substansia nigra pars kompakta (SNpc) bölgesinde dramatik bir nöron kaybı sonucunda striatum dopamin (DA) miktarının azalması ile karakterizedir (2). Parkinson semptomlarından rijidite, istem dışı tremor ve akinezimin ortaya çıkması için bu azalmanın %80 oranında olması gerekmektedir (3). Normal koşullar altında SN'de üretilen DA, striatuma etki ederek motor hareketlerin uyarılmasında ve koordinasyonunda rol oynar. PII'da ise SN'deki DA üreten nöronların kaybı sonucunda korteksin motor hareketleri düzenleme kapasitesi azalır (3).

MPTP, deneysel Parkinson hastalığını oluşturmak için kullanılan nörotoksinlerden biridir. MPTP, SN'de monoamine oksidase-B (MAO-B) aracılığı ile sitotoksik olan 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺) iyonuna çevrilir. MPP⁺ iyonu dopaminerjik nöronları tahrip ederek deneysel Parkinson hastalığını oluşturur (4).

DA, görsel yolağın önemli bir nörotransmitter (NT)'idir (5). Görsel yolak boyunca dopaminerjik nöronların bulunması Parkinsonlu hastalarda görsel sistemin etkilenip etkilenmediği sorusunu akla getirmiştir. 1978 yılında Bodis-Wollner ve Yahr'ın Parkinsonlu hastalarda anormal VEP'leri tespit etmelerinden sonra (6) bu konu ile ilgili pek çok araştırma yapılmıştır. Parkinsonlu hastalarda görsel duyarlılık ve görsel alan testleri normaldir ancak VEP gibi elektrofizyolojik çalışmalar bir spatio-temporal bozukluğun olduğunu göstermektedir (6,7).

VEP kaydının, görsel sistemin fonksiyonel değerlendirilmesinde kullanılan duyarlı ve güvenilir bir yöntem olduğu (8) dikkate alındığında, PII'da VEP'lerin değişmesi bu hastalıkta görsel sistemin de önemli ölçüde değiştiğinin göstergesidir.

Görsel sistemi etkileyebilecek diğer bir faktör de hücre membranlarında bulunan esansiyel yağ asitleri (EFA)'dir. Bu yağ asitlerinin nöral ve retinal dokularda önemli fonksiyonlarının olduğu pek çok çalışma ile kanıtlanmıştır (9,10,11). EFA, hücre membranında fosfolipid tabakasının entegral komponenti olarak, membran akışkanlığını ve lipid-protein etkileşimlerini düzenler, taşıyıcı proteinlere, hormon ve nörotransmitter reseptörlerine etki eder (9,12,13,14,15). Normal hücre fonksiyon için gerekli olan linoleik (LA, 18:2 n-6) ve α -linolenik (LNA, 18:3 n-3) asitler, EFA sınıfına girer (9). Bu yağ asitleri için kullanılan n-6 ve n-3 kısaltmaları, zincirin distal uçundaki metil karbon atomundan sayıldığında, 1. çift bağın pozisyonunu gösterir (9,12). Her iki yağ asidi de araşidonik asit (AA, 20:4 n-6), eikosapentaenoik asit (EPA, 20:5 n-3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, 22:6 n-3) gibi doymamış yağ asitleri (PUFA)'nin sentezi için prekürsördür (9,12).

Beyin fosfolipid fraksiyonundaki genel kompozisyonuna bakıldığında, temel PUFA'nın DHA okluğu tespit edilmiştir (9,12). Ayrıca DHA'nın yüksek düzeylerinin, sinaptozomlar, sinaptik veziküller, mitokondri ve mikrozoimler gibi hücre altı fraksiyonlarda olduğu da bildirilmiştir (9,11).

Diyette farklı yağların alınım sonucunda, beyin membranlarındaki yağ asidi kompozisyonunun değiştirilebildiği farklı araştırmalar sonucunda ortaya konmuştur (9,17,18,19). Yüksek düzeyde C20 ve C22 yağ asidi içeren balık yağları, özellikle DHA olmak üzere beyin PUFA konsantrasyonlarına en fazla etki eden yağ grubudur (9,20). Çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, hücre membranlarında DHA'nın bulunması beyin fonksiyonlarının yerine getirilmesinde önemli rol oynadığı (9,21,22,23,24) gibi görsel sistemi de etkilemektedir. DHA'dan zengin diyetle beslenen gebe bayanların çocuklarında retinal fonksiyonların ve görsel yolağın gelişiminin hızlandığı, VEP latenslerinin kısaldığı Malcolm ve arkadaşlarının (25) yaptıkları çalışma ile gösterilmiştir.

Parkinson ve Alzheimer (AD) gibi hastalıklarda serbest radikallerin artışıyla birlikte hücre membranlarındaki PUFA konsantrasyonunda kayda değer bir azalmanın meydana geldiği bulunmuştur (9). Hücre membranlarındaki PUFA'lar, sinyal molekülleri, ikincil haberciler, enzimler ve taşıyıcı proteinler üzerinde düzenleyici rol oynadıkları için PUFA'ların membrandaki eksiklikleri patolojik süreçleri hızlandırabilir.

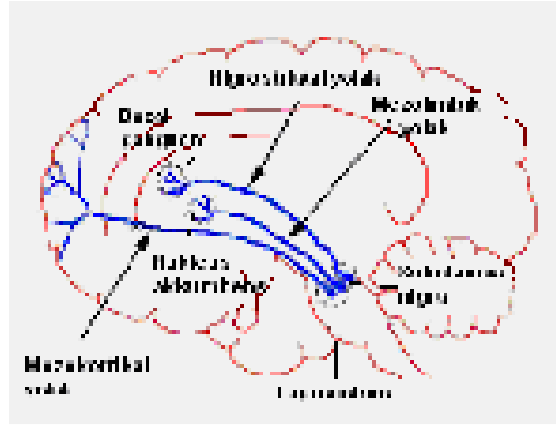
DHA'nın antioksidan enzimler üzerine artırıcı etkisini ortaya koyan çalışmalar dikkate alındığında, optimal bir diyetle membran PUFA içeriğinin belirli bir düzeyde tutulması, PH'da antioksidan enzim aktivitelerinin artmasına ve dolayısıyla LP'nin azalmasına neden olabilir. PH'da VEP latenslerinin uzamasının mekanizması tam olarak bilinmediğinden aydınlatmak üzere planlanan bu çalışmamızda VEP latensleri ile LP arasında bağlantı analizi yapılarak, DHA'nın düzeltici etkisinin varlığı ve elası etkisinin LP ve antioksidan enzimlerle ilişkili olup olmadığı incelenmiştir.

GENEL BİLGİLER

2.1. Dopamin ve Parkinson Hastalığı

2.1.1. Merkezi sinir sistemi nörotransmiteri: Dopamin

DA, pek çok mental ve nörolojik hastalığa katılımdan dolayı beyinde en çok çalışmış NT'lerden biridir. DA'nın başlıca kaynağı olan dopaminerjik nöronlar, diensefalon, mezensefalon ve olfaktori bulb'da lokalize olmuşlardır (26). Mezensefalonda bulunan dopaminerjik nöronlar beyin toplam dopaminerjik hücre sayısının %90'ını oluşturmaktadır (27). Mezensefalik dopaminerjik sistem, nigrostriatal, mezolimbik ve mezokortikal dopaminerjik sistem olmak üzere üç bölünmüştür (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. İnsan beyinde dopaminerjik yolak (27)

DA metabolizması 6 basamakta ortaya çıkmaktadır (Şekil 2.2):

1) Tirozin aminoasitiyle başlayan DA sentezi bir grup enzimatik reaksiyon içermektedir. Bu reaksiyonlarda hız kısıtlayıcı basamak L-tirozinin, L-dihidroksifenilalanin (L-DOPA)'e dönüşümünün tirozin hidroksilaz (TH) tarafından katalizlendiği basamaktır. L-DOPA ise aromatik L-aminoasit dekarboksilaz enzimi tarafından hızla DA'ya dönüştürülmektedir.

2) Sentezlenen DA, dopaminerjik sinir terminallerinin DA sinaptik vezikülleri içerisinde depolanmaktadır. DA'nın vezikül içine girişi, vezikül membranında yer alan ve ATP harcayarak protonları vezikül içine pompalayan bir taşıyıcı proteinin sürdürdüğü H^+ gradienti ile sağlanmaktadır.

3) Nöron terminallerindeki presinaptik veziküllerden DA salınımı **ekzositoz** yoluyla olmaktadır.

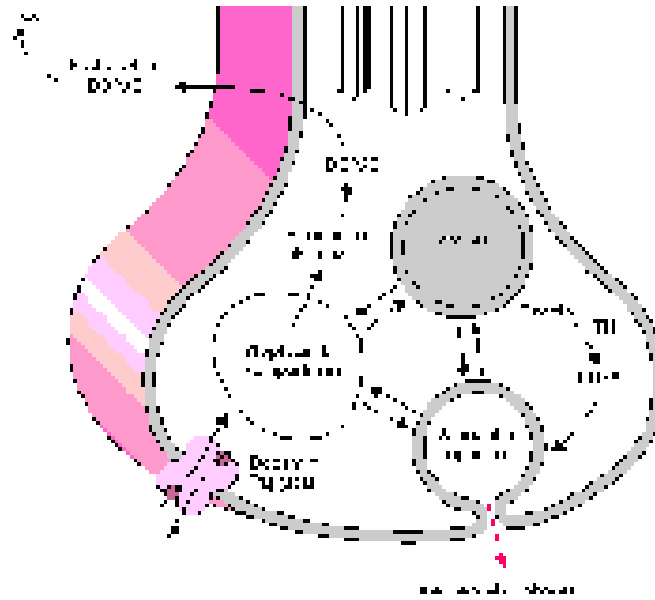
4) Sinaptik alana salınan DA postsinaptik membran üzerinde yer alan **DA reseptörlerine** bağlanmaktadır. En az beş DA reseptörü mevcuttur. DA reseptörleri farmakolojik ve yapısal özelliklerine göre iki ana sınıfa ayrılmaktadır:

- a) **D₁ ve D₅ reseptörleri**, uzun bir intrasellüler karboksi-terminal kuyruğa sahip olup D₁ sınıfını oluşturmaktadır. Bu sınıf reseptörler adenilat siklazı aktive edip cAMP sentezini uyarmakta ve fosfatidil inositol hidrolizini arttırmaktadır.
- b) **D₂, D₃, D₄ reseptör proteinlerinin üçüncü lobu** diğer sınıfa göre daha uzun olup D₂ sınıfı olarak adlandırılmaktadır. Bu reseptörler cAMP yapımını azaltmakta, K⁺ ve Ca⁺⁺ akışını düzenlemektedir.

Her iki sınıf reseptör de edisini guanin-nükleotid-bağlayıcı proteinler (G-proteinleri) aracılığıyla ortaya koymaktadır. DA reseptör tiplerinin her biri beyinde farklı anatomik lokalizasyonlara sahiptir. D₁ ve D₂ proteinleri striatumda, D₄ ve D₅ proteinleri ekstrastriatal olarak, D₃ reseptörü ise nükleus akumbens ve olfaktor tüberkülde geniş bir dağılım göstermektedir.

5) DA'nın geri alınımı presinaptik membranda bulunan yüksek afiniteli, ATP kullanan bir taşıyıcı tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu işlev kokain tarafından inhibe edilebilir. Yeniden döngüye giren DA sinaptik veziküller içine tekrar alınabilmekte ve transmitter olarak kullanılabilir.

6) DA'nın yıkımı, sinaptik aralıkta ya da geri alındıktan sonra presinaptik uç içerisinde gerçekleşmektedir. MAO ve katekol-o-metil transferaz (COMT)'in birbirini takip eden aktiviteleri ile DA önce 3,4-dihidroksifenil asetik asit (DOPAC)'e ve sonra 3-metoksi-4-hidroksifenil asetik asit (HVA)'e dönüştürülmektedir. MAO enziminin MAO-A ve MAO-B olmak üzere iki izoenzimi mevcuttur. Her iki izoenzim de periferde bulunmakta ve intestinal orijinli monoaminlerin inaktivasyonunu sağlamaktadır. MAO-B striatumdaki majör formdur ve striatumda DA'nın oksidatif metabolizmasının esas sorumlusudur. MAO-B presinaptik uçtaki mitokondrilerin dış membranında ve sinaptik aralıkta bulunmaktadır.



Şekil 2.2. DA metabolizması (28)

Mezensefalik dopaminerjik nöronlar, memeli tipine bağlı olarak sayısal farklılıklar göstermektedir; sıçanlarda 45.000, makaka maymunlarında 165.000 ve insanlarda 590.000. Bu sayıları etkileyen faktörlerden biri de yaştır. İnsanlarda dopaminerjik nöron sayısının 60 yaşından sonra %41 oranda azaldığı tespit edilmiştir (29).

Dopaminerjik nöronların motor davranış, motivasyon ve hafızada etkin rolleri vardır. Bu nedenle DA düzenlenmesinin hem mental hem de fiziksel sağlıkta önemli söz konusudur (27).

2.1.2.1. Dopamin ve İlişkili Patolojiler

Dopaminerjik nöronların, yüksek oksijen metabolizma hızları, düşük antioksidan seviyeleri ve yüksek Fe içeriklerine bağlı olarak özellikle oksidatif stres (OS)'e karşı hassas oldukları bilinmektedir (27). DA'nın, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan katabolizması aracılığıyla toksik reaktif oksijen türleri (ROS)'ni oluşturma yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir (30). DA oksidasyonu, hem geçiş metal iyonları varlığında kendiliğinden hem de MAO enzimi aracılığıyla meydana gelebilmektedir (27).

Dopaminerjik hücre kaybı ile ilişkilendirilen en önemli nörodejeneratif hastalık PD'dir.

2.1.2. Parkinson Hastalığı

PH, AH'den sonra gelen en yaygın nörodejeneratif hastalıktır (31). İlk kez 1817 yılında İngiliz hekim James Parkinson tarafından "Shaking Palsy" (titrek felç) adı altında spesifik nöropatolojik lezyon olarak tanımlanmıştır (1). PH'nin tüm dünyada, tüm ırklar ve etnik gruplarda görüldüğü bilinmektedir. Total populasyonda görülme sıklığı ise 1/1000'dir.

PH'da beyin DA seviyesinde düşme meydana gelmektedir (2). Bu düşüş hücre gövdeleri SNpc'de yerleşmiş, aksonları ve sinir terminalleri striatumda bulunan dopaminerjik nöronlardan oluşan nigrostriatal dopaminerjik yolağın dejenerasyonundan kaynaklanmaktadır (2). Bu bulgu bundan 180 yıl önce ortaya çıkarılmış olsa da konu ile ilgili çalışmaların hızı 1958'de Arvid Carlsson'ın memeli beyininde DA'yı bulmasını takiben artmıştır. PH'nin ikinci yaygın nöropatolojik özelliği geriye kalan nigral dopaminerjik nöronlarda görülen 'Lewy cisimciği (LB)' olarak adlandırılan küresel, eozinofilik, nöron içi inklüzyonların varlığıdır (4).

2.1.2.1. Parkinson Hastalığının Nöroanatomik Mekanizmaları

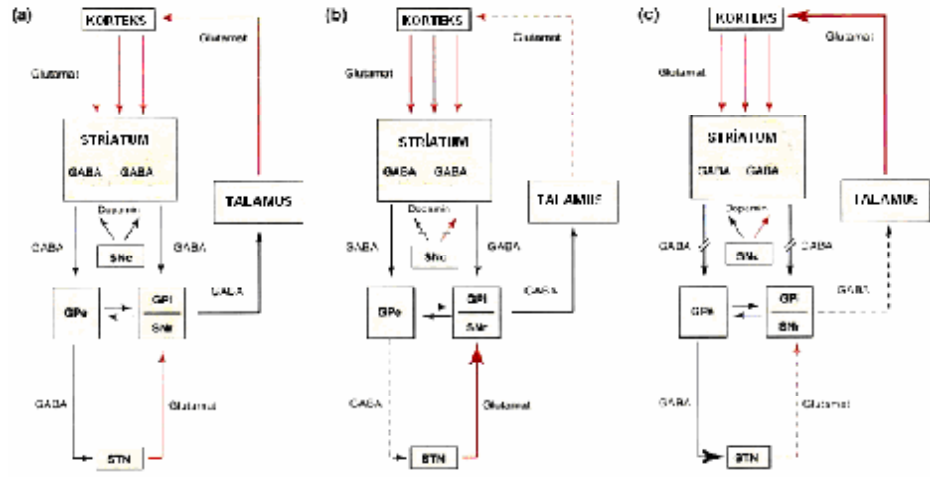
Bazal gangliyonlar (BG), beyin yarıkürelerinin iç kısmında, beyin sapının tavamında ve gri cevher külesi içinde yer alan subkortikal nükleuslardır. BG'lerin temel parçaları nükleus kaudatus, putamen, globus pallidus eksternus (GPe), globus pallidus internus (GPi) ve nükleus akumbens'tir. Nükleus kaudatus ve putamen birlikte 'striatum' olarak adlandırılmaktadır. Subtalamik nükleus (STN) ve SNpc ve substansia nigra pars retikülar (SNpr), BG'nin spesifik kısımlarından olmadıkları halde, bu sistemle fonksiyonel olarak ilgilidirler (32).

BG'ler esas olarak istemli hareketlerin kontrolünde önemli bir role sahiptir. İşlevini yerine getirebilmek için ilgili bölgelerden bilgi almak (afferent uyarılar) ve o bölgelere bilgi vermek (efferent uyarılar) durumundadır. BG'nin afferent girdilerinin önemli bir kısmı serebral korteks ve talamustan gelir. Bu afferent sinyallerin BG'ye giriş kapısı striatum, çıkış kapısı ise GPi ve SNpr'dir. BG'lerin efferent sinyallerinin çok büyük bir kısmı talamus yolu ile beyin korteksine, küçük bir kısmı ise beyin sapındaki pedünkülöpontin nükleusa gider.

Serebral korteks ve bazal gangliyonlar arasında biri direkt, diğeri indirekt olmak üzere iki yol vardır. Direkt olanı korteksin aktivitesini artırırken, indirekt olanı inhibe eder. Direkt yolda korteksten putamene giren sinyaller BG içindeki diğer yollara uğramadan doğrudan çıkış kapısına yönelirler ve talamus üzerinden kortekse geri dönerler. Buradaki NT, gamma amino bütirik asit (GABA)'tır. Direkt yoldaki net etki talamustan kortekse eksitator akışım arışıdır. Direkt yolu oluşturan nöronlar esas olarak D1 reseptörünü eksprese ederler.

İndirekt yolda korteksten putamene giren sinyaller GPe ve STN ara istasyonlarından geçtikten sonra çıkış kapısına yönelirler ve talamus üzerinden kortekse geri dönerler. Burada kullanılan NT'ler GABA ve glutamattır. İndirekt yolda sinir iletiminin net etkisi talamustan kortekse eksitator akışım azalmasıdır. İndirekt yolu oluşturan nöronlar esas olarak D2 tipi reseptörleri eksprese eder.

Sonuç olarak DA, direkt yolu uyurup indirekt yolu baskılayarak talamokortikal çıkış sinyallerini her iki yolda artırır ve korteks aktive olur. Normalde bu iki yol dengededir. PIT'da ise DA azalması sonucunda bu denge indirekt yolun lehine bozulur ve talamus üzerine indirekt yolun artmış etkisi ortaya çıkar. Sonuçta kortikal aktivasyonda azalma olur ve PIT belirtileri ortaya çıkar (33,34,35) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. PIT'in nöroanatomik mekanizmaları (33)

- BG'lerin normal işleyiş mekanizması
- SNpc'deki dopaminerjik çakışmanın kesintiye uğraması
- Striatal GABAergic nöronların hasarı

2.1.2.2. Parkinson Hastalığını Etkileyen Faktörler

Yaş: Genç erişkinlerin hatta çocukların etkilenebilmesine rağmen PH genellikle 55 yaşın üzerindeki insanlarda görülmektedir (36). Kırk yaşın altında başlayan olgular 'Erken Başlangıçlı PIT', 20 yaşından önce başlayan olgular 'Jüvenil PH' olarak tanımlanır. Jüvenil parkinsonizmde farklı bir nigral dejenerasyon görüntüsü vardır ve genellikle kalıtsaldır (37). Tüm hastaların %5'inde, 40 yaşından önce başladığı bilinen (38) PH, 65 yaş üzeri popülasyonun %1'inde tespit edilmiştir (39,40). Görülme sıklığı özellikle yaş ile artan, ilerleyici bir hastalıktır.

Cinsiyet: Çalışmaların çoğunda, PIT'in prevalansı erkek ve kadınlar arasında önemli bir farklılık göstermemektedir. Ancak aynı yaş grubundaki kadın ve erkekler karşılaştırıldığında, erkeklerde hastalığa yakalanma riskinin 1,5 kat daha fazla olduğunu tespit edilmiştir (41,42).

Çevresel Risk Faktörleri: 1982 yılında Kaliforniya'da genç narkotik bağımlılarında, MPTP içeren sentetik eroinin intravenöz enjeksiyonu ile ortaya çıkan toksik parkinsonizm olguları, bazı durumlarda ekzojen ajanlara maruz kalmanın, PH'ya yol açabileceğini düşündürmüştür. Çeşitli kimyasal maddelerin parkinsonizm yaptığı bilinmektedir fakat MPTP'ye bağlı parkinsonizmin çarpıcı özelliği, daha yaygın santral sinir sistemi harabiyeti yapması beklenirken, tamamen PH'nın anatomik ve klinik özelliklerini göstermesidir (43). Diğer ekzojen nörotoksinler, eser elementler, siyanid, vernik incelticileri, organik solventler, karbonmonoksit, karbondisülfid, hidrojen sülfid ve nitrik oksit (NO)'tir (41).

Travma: Epidemiyolojik çalışmalar kafa travması ile PII gelişimi arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir ancak bu konuda yapılan çalışmalar halen çelişkilidir (44,45).

Genetik Faktörler: PII durumlarından ortalama %95'inde açık bir genetik bağlantı yoktur, fakat kalan durumlarda hastalık kalıtsaldır (4). Yapılan genetik çalışmalarda mutasyonu halinde hastalığa neden olan ondan fazla genetik lokus saptanmıştır. Bunlar 4. kromozom üzerindeki alfa-sinüklein (otozomal dominant) ve UCH-L1 (Ubiquitin C-terminal hidrolaz) (otozomal dominant) genleri, 6. kromozom üzerindeki parkin geni (otozomal resesif), 1. kromozom üzerindeki DJ-1 geni (otozomal resesif) ve 1, 2, 4, 12. kromozomlar üzerinde yeri saptanan ancak fonksiyonları tam olarak aydınlatılmayan gen lokuslarıdır (46). Ancak mutasyonlar ile PII patogenezi arasındaki ilişki henüz açık değildir.

2.1.2.3. Parkinson Hastalığının Klinik Özellikleri

Tremor: 'İstirahat tremoru' (titreme), PH'nın en iyi tanımlanan spesifik bulgusudur. Dinlenme durumunda meydana gelmekte, istemli hareketlerde azalmakta, dolayısıyla günlük yaşam aktivitelerini bozmamaktadır (4). Olguların %50-75'inde ilk motor semptom olarak tremor ortaya çıkar (47). PII'da klasik istirahat tremor hızı 4-6 Hz'dir. Tremor en sık ellerde, bazen de ayaklar, dil, çene ya da dudakta olabilir.

Rijidite: Rijidite (kas katılığı), agonist ve antagonist kaslarda eş zamanlı olarak tonusun artmasıdır (48). Proksimal (boyun, omuz, kalça) ve distal (el ve ayak bilekleri) yerleşimli olabilir. Rijidite genellikle tremor gibi tek taraflı başlar ve daha sonra karşı tarafa yayılabilir (49). Tremora göre daha az değişken bir bulgu olan rijidite, hastanın fonksiyonel yetersizliğini daha iyi yansıtır.

Bradikinezi: Bradikinezi (istemli hareketlerde yavaşlama), PH'da bazal gangliyon fonksiyon yetersizliğinin en karakteristik semptomudur (50). Bradikinezi sıklıkla hareketin başlatılmasında gecikme, hareketin amplitüdünün küçülmesi, bir hareketten diğerine geçememe, aynı anda iki hareketi yapamama, hareket fakirliği (hipokinezi) ve hareket edememe (akinezi) anlamında da kullanılır (50). Bradikinezinin kendine özgü belirtileri arasında yüzüm ifadesiz görünüm alması (bradimimi), monoton konuşma (hipokinetik dizartri), ses volumünde azalma (hipofoni), yutma işlevinin

azalmasına bağlı ağızda salya birikimi ve akması (sialore), yürürken sırasında otomatik kol hareketlerinin azalması veya kaybolması ve adını **boyunda azalma** sayılabilir. Giyinmek ve yemek yemek gibi günlük işleri yapmak daha uzun zaman alacağından bradikinezi yaşam kalitesini anlamlı derecede bozabilir (4).

Postural Bozukluk: Kambur bir postur, düşme ile sonuçlanabilen normal postural refleks ve denge kaybı ve tekerlekli sandalyeye hapsolme söz konusu olabilir (4).

Demans (bunama) ve Emosyonel Değişiklikler: PH'da kavrama süreçleri yavaşlar, özellikle yaşlı hastalarda demans oldukça sık görülür (4). Ayrıca Parkinsonlu hastalarda depresyon yaygındır (4).

2.1.2.4. Parkinson Hastalığının Nörokimyasal ve Nöropatolojik Özellikleri: PH'nın patolojik belirtilerinin ilki nigrostriatal dopaminerjik nöronların %50-70 oranında kaybıdır. Nigrostriatal nöronların hücre gövdeleri SNpc'de olup putamene uzanır. Bu nöronlar nöremelanin (NM) içerir (51). Semptomların başlangıcında SNpc dopaminerjik nöronların %60'ı kaybedilirken putamende bu oranın %80'e vardığı görülmektedir (4). Bunun sonucunda SNpc'de olduğu kadar striatumda da DA (%80) ve onun metabolitleri olan HVA ile DOPAC'ın, DA'nın biyosentetik enzimi TH'nin ve DA taşıyıcısı (DAT)'nin azaldığı tespit edilmiştir (52,53).

PH ile ilişkili dopaminerjik nöron kaybının, normal yaşlanmada görülen modelden farklı olarak karakteristik bir topolojisi vardır. PH'da normal yaşlanmaya göre nöron kaybının hızı ve yoğunluğu daha fazladır. Normal yaşlanma sırasında SNpc'nin dorsomedial yanı etkilenirken PH'da hücre kaybı SNpc'nin ventrolateral ve kaudal bölgelerinde yoğunlaşmıştır (54).

PH'nın ikinci patolojik belirtisi olan LB'lerin varlığı ilk kez 1912 yılında F.H. Lewy tarafından Parkinson hastalarının beyin sapında, SN'nin NM içeren nöronlarının stoplazmasında tanımlanmıştır (55). LB'lerin yapısında α -sinüklein, parkin, ubiquitin gibi çeşitli proteinler ve nörofilamentler bulunmaktadır (4). LB'ler 15 μ m'den daha büyük çapa, yoğun hyalin çekirdeğe ve bunun etrafında net bir ışık halkasına sahiptir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. SNpc dopaminerjik nöronları içerisinde LB'ler (4)

PII'nin patolojisi yaygın olarak yalnızca dopaminerjik nöron kaybı olarak düşünülse de nörodejenerasyon dopaminerjik nöron sınırlarının dışına çıkar (56). Nörodejenerasyon ve LB oluşumu, serebral korteks, olfaktör bulb ve otonom sinir sisteminde olduğu kadar noradrenerjik (LC: lokus korelus), serotonerjik (rafe) ve kolinerjik (Meynert'in bazal çekirdeği, vagusun dorsal motor çekirdeği) sistemlerde de tespit edilmiştir (4). Bu nigral olmayan lezyonlar, tüm PII durumlarının aşağı yukarı %30'unda meydana geldiği bilinen demans gibi kognitif ve psikolojik bozukluklara sebep olmaktadır (57). Özellikle yaşlı Parkinson hastalarında görülen demansın nedeni hipokampusun dejenerasyonu ve kolinerjik sistemin etkilenmesidir. Ancak serotonerjik ve noradrenerjik yolaklardaki lezyonlar dopaminerjik nöronlardaki lezyonlar kadar kesin karakterize edilmemiştir. Bu sistemlerin katılımlarının hastalığın daha şiddetli veya daha geç evrelerinde olduğu düşünülmektedir.

PII'yi karakterize eden patolojik değişiklikler belirlense de dopaminerjik nöronların ölümünden sorumlu mekanizma ya da mekanizmalar henüz aydınlatılmamıştır. Bu nedenle PII için uygulanan tedavilerin çoğu koruyucu olmaktan çok semptomatiktir.

2.1.2.5. Parkinson Hastalığı Etiyolojisi

Sporadik PII'nin sebebi bilinmemektedir. Hastalığın oluşumu üzerine çevresel toksinler veya genetik faktörlerin rolü henüz kanıtlanmamıştır. Özellikle MPTP'nin oluşturduğu Parkinsonizmin keşfinden dolayı çevresel toksin hipotezi 20.yy'de daha baskın olurken PII genlerinin keşfi kalıtsal hassasiyet faktörlerine ilgiyi yinelenmiştir. Dolayısıyla şu an hakim olan görüş her iki faktörün de rol oynadığı yönündedir. Bu görüşe göre hastalık, genetik yatkınlık taşıyan insanlarda henüz çok iyi anlaşılabilen değişik çevre faktörlerinin etkisi sonucu ortaya çıkmaktadır.

Çevresel hipotez, PH'ya bağlı nörodejenerasyonun bir dopaminerjik nörotoksine maruziyet sonucu oluştuğunu öne sürer. İnsan epidemiyolojik çalışmaları kırsal çevrede yaşamın ve buna bağlı olarak herbisitlere ve pestisitlere maruz kalmanın PH'ya yakalanma riskiyle ilişkili olduğunu göstermiştir (58). Ancak herhangi bir spesifik toksinin sporadik PII'nin sebebi ile ilişkili olduğunu gösteren inandırıcı bir veri henüz yoktur. Sigara ve kahve kullanımının ise PII gelişim riskiyle ters ilişkili olması bazı çevresel faktörlerin PII hassasiyetini değiştirdiği düşüncesini güçlendirmektedir.

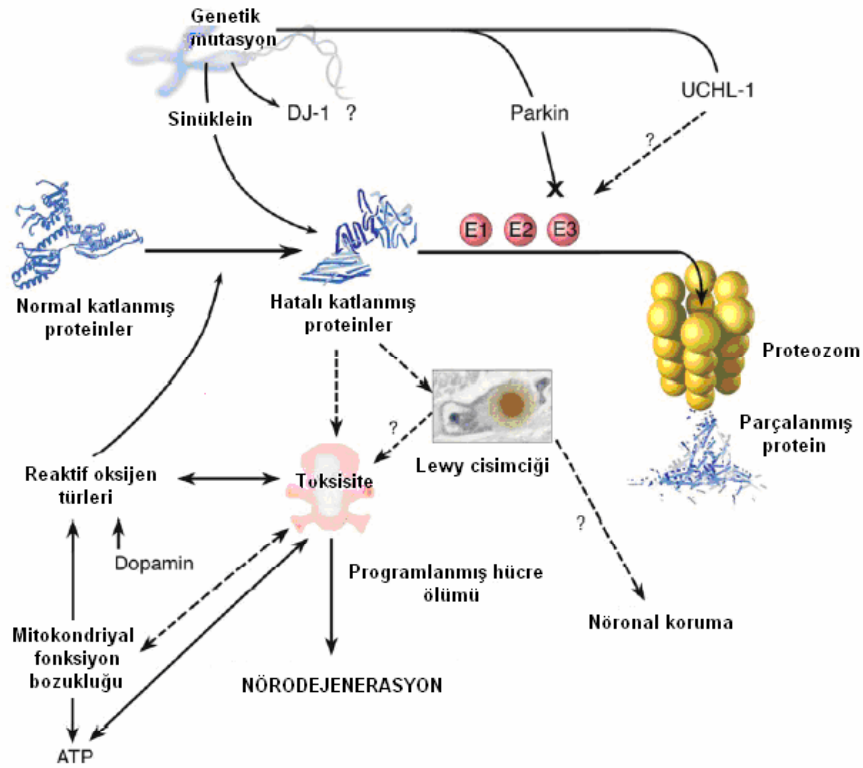
Çevresel ve genetik kategoriye uymayan diğer olasılık PH nörodejenerasyonundan endojen bir toksinin sorumlu olduğudur. Çevresel maruziyet veya metabolik yollardaki kalıtsal farklılıklar sebebiyle normal metabolizmanın bozulması toksik maddeleri oluşturabilir. Örneğin, ROS'u oluşturan DA'nın normal metabolizması endojen toksinin bir kaynağı olabilir (59).

2.1.2.6. Parkinson Hastalığı Patogenezi

PII'nin patogeneziyle ilgili olarak iki ana hipotez önerilmektedir. Hipotezlerden birinde SNpc dopaminerjik nöron ölümüne proteinlerin hatalı katlanması ve

agregasyonunun neden olduğu ileri sürülürken diğerinde ise mitokondri fonksiyon bozukluğunun yanı sıra DA'nın oksitlenmesini kapsayan OS'nin sorumlu olduğuna işaret edilmektedir (4). Ayrıca elektrotoksisite, nöroinflamasyon ve apoptoz gibi zararlı faktörler kaskadın birbirleriyle etkileyerek patolojide yer aldığı düşünülmektedir (31).

Güncel PII çalışmalarının hedefi SNpc dopaminerjik nöronların ölümünde anahtar olan bu yolların aydınlatılmasıdır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Nörodejenerasyonun mekanizması (4)

Proteinlerin Hatalı Katlanması ve Agregasyonu: Beyin dokularında proteinlerin anormal dağılımı PII'yi de kapsayan pek çok yaşa bağımlı nörodejeneratif hastalığın özelliğidir. Protein agregatlarının kompozisyonu ve yerleşimi farklı hastalıklarda farklılık gösterse de bu değişimin nöronlar için toksik olduğu bilinmektedir.

Agregatlar veya çözünebilir hatalı katlanmış proteinler çeşitli mekanizmalar yoluyla nörotoksik olabilir. Protein agregatları hücrenin yapısını bozarak ya da nöronlarda iletişimi engelleyerek direkt hasara neden olabilir. Protein inklüzyonları ayrıca hücre canlılığı için önemli olan proteinleri işlevsiz duruma getirebilir. Bu

nedenle inklüzyon oluşumu ve nörodejenerasyon arasında bir korelasyon olabilir. Ancak bunun aksini gösteren çalışmalar (60,61) da mevcuttur.

Sporadik PH'da proteinlerin fonksiyon eksikliğini tetikleyen faktörlerin bir kısmı aydınlatılmıştır. PTH patogenezinde anahtar rol oynadığı uzun zamandır düşünülen oksidatif hasar bu mekanizmalardan biridir (62). Oksitlenmiş proteinlerin doku içerikleri yaşla birlikte artmaktadır (63) Nöronlar postmitotik oldukları için bu artışa karşı özellikle hassas olabilirler. Yapılan in vitro çalışmalarında LFB'lerin normal α -sinükleinlere oranla oksidatif olmaya meyilli α -sinükleinleri içerdikleri gösterilmiştir (64). α -sinükleinin hatalı katlanması ve toplanması herbisit ve pestisitler indüklemektedir (65,66). Proteozomal fonksiyon eksikliği ve bunun sonucunda hatalı katlanmış proteinlerin yığılması tehlikeli bir döngüye sebep olmaktadır.

Mitokondriyal Fonksiyon Bozukluğu ve Oksidatif Stres: Parkinsonlu hastaların dokularında mitokondriyal fonksiyon eksikliğini ve oksidatif hasarı gösteren çalışmalar mevcuttur. Apoptozun başlangıca mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun katılması nörodejenerasyonda oksidatif hasarın kritik rolünü göstermektedir (67).

PH'da, mitokondriyal elektron taşıma sistemi (ETS) multienzimi NADH: ubiqlnon oksidoredüktaz (kompleks I)'in aktivitesinde anomaliler tespit edilmiştir (68). In-vitro çalışmalar bu kompleks I bozukluğunun hücreleri oksidatif hasara ve enerji eksikliğine maruz bırakabileceğine işaret etmektedir (68).

Moleküler oksijen (O_2)'in neredeyse %100'ü mitokondriyal solunum ile tüketilirken, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikallerini kapsayan serbest radikaller ürün şeklinde üretilir. Kompleks I'in inhibisyonu toksik hidroksil radikal (OH^{\cdot})'ini üretebilen veya peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)'i oluşturmak üzere NO ile tepkimeye girebilen $O_2^{\cdot-}$ 'nin üretimini artırır. Bu moleküller nükleik asit, protein ve lipitlerle tepkimeye girerek hücrel hasara neden olabilir. ETS, bu reaktif türlerin hedefi olabilir ve bu da mitokondriyal hasar ve daha fazla ROS üretimini sonuçlandırır (69).

ROS oluşumu için dopaminerjik nöronlar özellikle verimli bir çevre olabilir. Örneğin DA'nın MAO enzimi aracılığıyla katabolizması sonucunda H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ meydana gelir (70). PH'nın erken safhalarında azalmış nigrostriatal inputu kompanse etmek için artmış DA dönüşümü, fazla H_2O_2 oluşumuna ve sonrasında Fe aracılı Fenton reaksiyonu ile OH^{\cdot} ya dönüşümüne neden olabilir (30,71); bu da dopaminerjik hücreyi ölüme götürür (72). MAO aktivitesi yaşla artar ve bu durumda hücreleri OS aracılı hasara karşı korumasız bırakır (73). Mitokondri ile ilişkili enerji yetersizliği DA'nın veziküller olarak depolanmasını bozabilir; bu da serbest sitozolik DA konsantrasyonunun yükselmesine sebep olur. DA'nın oto oksidasyonu ise sistein artıklarıyla tepkimeye girerek proteinleri hasarlayan bir moleköl olan DA-quinonu oluşturur (70).

Sonuç olarak DA, zararlı reaksiyonların hücreSEL makro molekülleri hasarlanmasında rol aldığı için SNpc dopaminerjik nöronların oksidatif hasara karşı hassas olmasına neden olmaktadır. Ancak oksidatif fosforilasyon anomalisi veya ROS oluşumu ile PTF'yi ilişkilendiren veri sayısı oldukça azdır.

Parkinson Hastalığı Patogenezinde Oksidatif Stresin Yeri ile İlgili Kanıtlar: Riederer ve Youdim'in grubu, Parkinsonda SN'de Fe içeriğinin (74) arttığını gösterirken farklı bir çalışmada da SNpc'de ferritin düzeyinin düştüğünü tespit edilmiştir (75). Ayrıca SN'de LP göstergelerinden TBARS (76) ve lipid hidroperoksit düzeylerinin (77) ve bir LP ürünü olan 4-hidroksinonenal (4-HNE) miktarının (78) arttığı saptanmıştır. Diğer taraftan PH'da protein oksidasyon göstergesi protein karbonil içeriğinin (76,77,78) ve ROS aracılı DNA hasar göstergesi 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHDA) (79) seviyesinin arttığı gösterilmiştir.

OS'nin neden olduğu hasara antioksidan savunma mekanizmalarındaki değişiklikler eşlik etmektedir. PH'da E ve C vitamin düzeylerinin değişmeden kaldığı gösterilmiştir (80). Parkinsonlu hastaların SN'lerinde CAT ve GPx seviyeleri değişmemekte veya çok az düşmektedir (81,82). SN ve serebrospinal sıvı (CSF)'de CuZn bağımlı SOD (Cu/Zn-SOD) enzim aktivite düzeyinin değişmediği ancak Mn bağımlı SOD (Mn-SOD) enzim aktivite düzeyinin arttığı (83,84) kanıtlanmıştır. Bu bulgulara ilave olarak, Parkinsonlu hastaların SN'lerinde redükte glutatyon (GSH) miktarında büyük bir azalma tespit edilmiştir (85,86,87).

OS'nin PH için bir patogenetik faktör olduğu hipotezine ilişkin daha fazla kanıt MPTP gibi seçici bir dopaminerjik toksinin keşfiyle ortaya çıkmıştır (88,89). MPTP çalışmaları ile OS'nin nigral hücre ölümüyle ilişkisi olduğu gösterilmiştir (90,91).

2.1.2.7. Parkinson Hastalığı Hayvan Modelleri

PH patogenezini üzerine olan çalışmalar hayvan modelleri gelişimine bağlı olarak hızla ilerlemiştir.

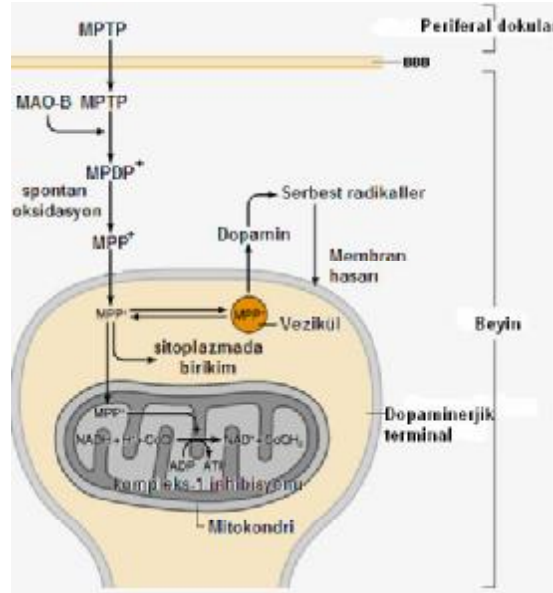
Toksin Tabanlı Modeller: Dopaminerjik nörodejenerasyonu indüklemek için kullanılan nörotoksinler, 6-hidroksidopamin (6-OHDA), MPTP ve son zamanlarda dikkati çeken paraquat, rotenon ve manebdir. Tahminen bu toksinlerin hepsi ROS oluşumuna neden olmaktadır. Rotenon ve MPTP kompleks Pi güçlü bir şekilde inhibe etme yetenekleri açısından benzerdir. Ancak sadece MPTP kesin olarak bir insan parkinsonizm formuna bağlanmıştır ve bu nedenle en yaygın kullanılan modeldir.

MPTP (1-metil-4-fenil 1,2,3,6 tetrahidropiridin) Modeli: Narkotik meperidin (Demerol) analogu MPTP, sentetik eroin 1-metil-4-fenil-4-propiyonoksipiperidin (MPTP)'in bir laboratuvarında yasa dışı sentezi sırasında yanlışlıkla üretilen nörotoksik kontaminasyondan sorumlu bir maddedir (89). İnsan ve maymunlarda MPTP, PTF'nin tremor, rijidite, bradikinezi, postural bozukluk ve donup kalma gibi özellikleri ile karakterize, geri dönüşümsüz ve şiddetli Parkinson sendromunu oluşturmaktadır (4).

Maymunlarda ve farelerde MPTP uygulamasını takiben SNpc'de dopaminerjik hücre gövdelerinin sayılarının, striatal DA içerik ve metabolitlerinin belirgin derecede azaldığı tespit edilmiştir (92). Ayrıca maymunlarda MPTP, TB'lere benzeyen nöron içi eozinofilik inklüzyonların oluşumunu indüklemektedir (93). MPTP'ye maruz kalan insan ve insan dışı primatlarda bir DA prekürsörü olan levodopa (L-3,4-dihidroksi fenil alanin)'ya karşı cevap Parkinson hastalarında gözlenenler ile neredeyse aynıdır (4). Ayrıca hem maymunlarda hem de farelerde MPTP'ye karşı hassasiyet PH ile benzer bir şekilde yaş ile birlikte artmaktadır (94,95).

PH ile MPTP'nin oluşturduğu nöropatolojinin karşılaştırılması ile ilgili veriler daha çok maymunlardaki MPTP çalışmalarından kaynaklanmaktadır (93), çünkü yalnızca dört insan MPTP vakası otopsiye alınmıştır (96,97). Bu çalışmalarda düşük doz MPTP uygulanan maymunların dopaminerjik sinir terminallerinin PH'da olduğu gibi ayrıcalıklı dejenerasyon sergilediği gösterilmiştir (98). MPTP'nin SNpc'nin ventral ve lateral segmentlerinde ayrıcalıklı bir nöron kaybını kapsayan dopaminerjik yolak hasarı PH'da gözlenen nöron kaybına benzerdir (99,100); bu bölgesel hasar MPTP uygulanan farelerde de kanıtlanmıştır (101,102). Ayrıca PH'ya benzer olarak (103), MPTP'nin oluşturduğu dejenerasyona NM içeren dopaminerjik nöronlar daha hassastır (104). NM, pestisitler, MPTP ve MPP⁺ gibi birçok organik molekül ile etkileştiğinden, bu toksik bileşikler için depo gibi hareket ederek pigmentlenmiş nöronların toksisitesine kapılabilir. NM'nin PH'da ve MPTP uygulanan maymunlarda, Fe ile tepkime yoluyla seçici olarak pigmentlenmiş nöronlarda ROS oluşumunu katalize ettiği gösterilmiştir (105).

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



Şekil 2.6. MPTP metabolizmasının şematik gösterimi (106)

MPTP'nin oluşturduğu Parkinsonizmin moleküler yolu Şekil 2.6'da gösterilmiştir. Bu bulgu araştırmacılara PH genlerinin fonksiyonlarını açıklamak ve dopaminerjik nöronların dejenerasyonunda meydana gelen moleküler olayların ayrımını yapmak amacıyla MPTP'yi biyolojik bir araç olarak kullanma olanağı sağlamıştır.

Oldukça lipofilik olan MPTP, sistemik uygulamadan sonra dakikalar içerisinde kan beyin bariyeri (BBB)'ni geçer (107). İlk olarak beyinde ön toksin MPTP, MAO-B aracılığıyla bu enzimin bulunduğu yegane hücreler olan glia ve serotonerjik nöronlarda 1-metil-4-fenil-2,3-dihidroksipiridinyum (MPDP⁺)'a dönüşür (4). Daha sonra spontan oksidasyon ile aktif toksik molekül olan MPP⁺'ye okside olur ve henüz bilinmeyen bir mekanizma ile ekstrasellüler boşluğa salınır (4). MPP⁺ polar bir molekül olduğundan hücrelere girmek için plazma membran taşıyıcılarına bağlanır (4). MPP⁺, DAT için norepinefrin ve serotonin gibi yüksek afiniteli bir substrattır (108,109). DAT'ın genetik kaybı veya farmakolojik olarak inhibisyonu MPTP'nin oluşturduğu dopaminerjik hasarı önlemektedir (108,110). Bu da MPTP toksisitesinde bu basamağın bağlayıcı rolünü göstermektedir. Ancak DAT aracılığıyla MPP⁺'nin hücre içine alınımı MPTP'nin sebep olduğu nigrostriatal dopaminerjik lezyonun seçiciliğini tümüyle açıklamamaktadır. MPP⁺ tüm monoaminerjik nöronlarda konsantrasyonun biyokimyasal değişiklikler oluştururken (111) dejenerasyon en çok dopaminerjik nöronlarda meydana gelmektedir.

MPP⁺ nöronlar içinde üç yol izleyebilir;

- 1) Sinaptik veziküllere taşınmak üzere veziküller monoamin taşıyıcı-2 (VMAT2)'ye bağlanabilir (112).
- 2) Mitokondriyal transmembran potansiyeline bağlı bir mekanizma ile mitokondri içinde yoğunlaşabilir (113).
- 3) Özellikle negatif yük taşıyan sitozolik enzimlerle etkileşmek üzere sitozol içinde kalabilir (114).

MPP⁺'nin vezikül içine alınması mitokondriye girişini engelleyerek hücreleri nörodejenerasyona karşı koruyor gibi görünmektedir (4). VMAT2'den yoksun farelerin MPTP'nin neden olduğu nörodejenerasyona karşı daha fazla duyarlılık sergilediği kanıtlanmıştır (115). Bu da MPP⁺'nin vezikül içine alınmasının önemini göstermektedir.

Nigrostriatal Nörodejenerasyonun Mekanizması: Mitokondri içine alınan MPP⁺, mitokondriyal ETS multienzimi kompleks I'ı inhibe ederek oksidatif fosforilasyonu bozar (116). Yapılan son çalışmalarda, MPP⁺ nin direkt olarak kompleks III (ubiquinol: ferrositokrom c oksidoredüktaz) ve IV'ü (ferrositokrom c: oksijen oksidoredüktaz veya sitokrom c oksidaz) de inhibe ettiği saptanmıştır (117). Kompleks I blokajı MPTP'ye en duyarlı beyin bölgelerinden özellikle striatum ve ventral tegmental alan (VTA)'da (118,119) hızla doku ATP içeriğinin düşmesine

neden olur. ATP açığının MPTP uygulamasından çok kısa bir süre sonra geliştiği, bir kaç saat içinde ise sönüldüğü gösterilmiştir (120). Hücresel ATP azalışının sonucu olarak, hücre içi depolardan hücreler arası boşluğa anormal miktarda DA salınır.

DA'nın enzimatik oksidasyonu sonucunda $\cdot\text{OH}$ oluşur (121). Ayrıca MPP^+ kompleks I inhibisyonu aracılığıyla elektron (e^-) akışına engel olarak, özellikle O_2^- olmak üzere ROS üretimini uyarabilir (122,123). Dolayısıyla MPP^+ 'ye bağlı kompleks I inhibisyonunun etkisi OS'nin artmasıdır (4). Prezedborski ve meslektaşları (124) CuZn-SOD'u yüksek oranda eksprese eden transgenik farelerin MPTP'nin neden olduğu nörotoksositeye karşı yabamıl farelerden daha direçli olduğunu göstermiştir. Bu in-vivo deneyler O_2^- 'nin MPTP nörotoksitesiyile ilişkisi olduğunu gösterse de O_2^- kendi içinde fazla toksik olmayan zayıf bir radikaldir. O_2^- 'nin oluşumunu takiben gözlenen toksisitenin çoğunluğunun O_2^- 'nin NO gibi diğer serbest radikallerle reaksiyonuna bağlı olduğuna inanılmaktadır (125). O_2^- 'nin NO ile reaksiyonu birçok nörotoksik ve nörolojik hastalık modeliyle ilişkisi olan güçlü oksidan ONOO \cdot 'yu oluşturur (126). MPTP patogeneğinde nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) kökenli NO'nun rolüne ek olarak yapılan son çalışmalar indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) kökenli NO'nun da rol oynayabileceğini önermektedir (127,128).

MPP^+ ayrıca, sinaptik veziküllerden sitozole DA sızmasını tetikleyerek dolaylı yoldan ROS üretimini stimüle edebilir (129). Sitozoledeki fazla DA kolaylıkla otooksidasyona uğrayabilir böylece nigral nöronları OS'ye maruz bırakan çok büyük bir ROS patlaması gerçekleşir (130). Ayrıca sitozolik DA artışı, nigral nöronların nörodejenerasyona karşı hassasiyetlerinin artmasına katılan NM (103) oluşumunu stimüle edebilir (131).

Enerji metabolizması değişiklikleri ve ROS oluşumu, MPTP uygulamasını takiben birkaç saat içerisinde yani nöronal ölüm meydana gelmeden günler önce pik yapar (132,133).

Farelere düşük miktarda uzun süreli MPTP uygulaması SNpc nöronlarında morfolojik olarak tanımlanan apoptoz ile sonuçlanmıştır (134).

MPTP uygulaması SNpc dopaminerjik nöronların sitozolünde α -sinüklein birikimi ve nitrasyonuna neden olmaktadır (135,136). Mutant farelerde α -sinüklein yoksunluğunun MPTP'nin oluşturduğu nörodejenerasyonu engellediği (137), hücre kültürü çalışmalarında ise mutant α -sinükleinin ekspresyonunun apoptozu artırdığı (138) gösterilmiştir. α -sinükleinin programlanmış hücre ölümü (PCD) düzenlenmesinde direkt rol alıp alınmadığı kesin olarak bilinmese de yapılan çalışmalar PCD'nin aktivasyonunun MPTP toksitesiyine aracı olduğunu kanıtlamaktadır. Dolayısıyla spesifik PCD moleküllerinin hedeflenmesi PH tedavisi için değerli bir nöroprotektif strateji olabilir.

2.1.2.8. Parkinson Hastalığı ile İlgili Sonuçlar ve Gelecekteki Yönelimler

Son 20 yılda PH patogenezinin aydınlatılmasında, MITF'nin oluşturduğu PH modelinin keşfi önemli yer tutmaktadır. Bu buluş sonrasında mitokondriyal fonksiyon, oksidatif hasar ve nörodejenerasyon ile ilişki kurulan nörodejenerasyonun moleküler tabanını inceleyen araştırmalar yapılmıştır.

Tüm gereksinimleri karşılayan yeni bir hayvan modelinin keşfi araştırmacılara PIT'da dopaminerjik nöronları nörodejenerasyona karşı ayrıcalıklı olarak hassas yapan eşsiz özelliklerini araştırma ve yeni tedavileri test etme imkanı sağlayabilir.

Hayvan modellerinden yola çıkılarak gelecekte uygulanacak olan tedavilerden biri: PIT'nın patogenezinde yer aldığı düşünülen serbest radikal oluşumunun engellenmesi olabilir.

2.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi

Organizmanın varlığının ve bütünlüğünün korunması, sağlıklı bir homeostatik düzenlenmeye bağlıdır. Hücresel homeostazis de bunun bir parçasıdır. Aerobik organizmalarda ROS önemli bir tehdit unsurudur. Normal oksijen metabolizması sırasında oluşan bu ürünler, vital hücresel yapılar ve fonksiyonlar üzerinde önemli hasarlar meydana getirebilir. Fakat aerobik organizmalar bu zararlı etkilerden kendilerini koruyacak savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu koruyucu mekanizmalara 'antioksidan savunma sistemi' denir (139).

2.2.1. Serbest Radikal Kavramı ve Oksijen Radikalleri

2.2.1.1. Serbest Radikal Kavramı

Atom, bir çekirdek ve onun çevresinde bulunan değişik sayıda e^- lardan oluşmaktadır. Enerji düzeylerine göre belirli bir düzende yerleşen e^- lar, orbital adı verilen yörüngelerde hareket etmektedir. Her bir orbitalde iki e^- bulunur ve e^- lar aynı orbitalde kendi eksenleri etrafında, daima birbirlerine zıt yönde döner. Bu e^- çiftleri kararlılığı sağlamaktadır.

Serbest radikaller, atomik veya moleküler yapılarında eşleşmemiş tek e^- içeren kimyasal türlerdir. Her türden kimyasal veya biyokimyasal tepkime daima atomların dış orbitallerindeki e^- lar seviyesinde gerçekleşir. Bu nedenle radikaller yüksek reaktif özelliğe (e^- alma, e^- verme = redüksiyon, oksidasyon) sahiptir (140). Bir serbest radikalın reaktivitesi yarı ömrü ile ters orantılıdır.

Serbest Radikal Oluşumu: İçinde bulunduğumuz çevrede devamlı bir radikal yapımı söz konusudur. Serbest radikallerin biyolojik materyallerdeki varlığı ise yaklaşık 50 yıl kadar önce keşfedilmiştir (141). Hücresel koşullarda gerçekleşen serbest radikal üretimi ciddi bir miktar ve çeşitliliktedir. Bu üretim rastlantısal bir şekilde metabolizmanın yan ürünü olarak (142) veya belli bir amaca yönelik (örneğin fagositoz) olabilmektedir. Radikaller, kovalent bağların homolitik kırılması, normal

bir molekülün e^- kaybetmesi ve normal bir moleküle e^- transferi olmak üzere başlıca üç temel mekanizma ile oluşur (143).

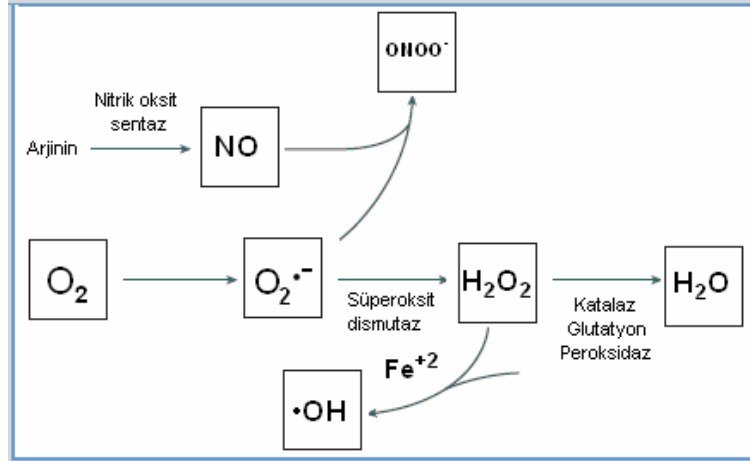
Bir radikal, radikal olmayan bir moleküle reaksiyona girerse başka bir serbest radikal oluşur. Bu özellik serbest radikallerin zincirleme reaksiyonlara girebilmelerine olanak sağlar (144).

2.2.1.2. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidan Ajanlar

Anaerobik mikroorganizmalar hariç tüm canlılar ATP yapımı dolayısıyla yaşam için oksijene ihtiyaç duyar. Fakat paradoksik olarak oksijenin metabolizması sırasında az miktarda da olsa zararlı yan ürünler (reaktif oksijen türleri-serbest oksijen radikalleri) meydana gelir (Şekil 2.7). ROS terimi radikal zincir reaksiyonlarının başlaması ve/veya uzamasında görev alan radikal olan ve olmayan tüm reaktif oksijen türlerini kapsayan kolektif bir terimdir. Biyolojik etkileri en önemli olan serbest radikaller oksijenden oluşan serbest radikallerdir. Bu nedenle biyolojik sistemlerde radikal kayıplarından bahsedildiğinde daima oksijen merkezli radikaller akla gelir.

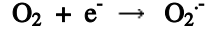
Oksijenin aerobik hücrelerde metabolizması sırasında oluşan en önemli reaktif oksijen türleri; süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit molekülü (H_2O_2), hidroksil radikali ($\cdot OH$), hidroperoksit (HO_2^{\cdot}) ve tekil (singlet) oksijen (1O_2)'dir.

Atmosferik bir bileşik olan ozon (O_3), nitrik oksit radikali (NO^{\cdot}) ve hipoklorik asit ($HOCl$) gibi çeşitli moleküller ise güçlü oksidan etkiye sahip moleküllerdir (139,145).



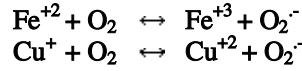
Şekil 2.7. ROS (146)

Süperoksit Anyon Radikali ($O_2^{\cdot-}$): Aerobik hücrelerde O_2 'nin bir e^- alarak indirgenmesiyle oluşan $O_2^{\cdot-}$, oksijen metabolizması sırasında meydana gelen ilk radikaldir (147).



$O_2^{\cdot-}$, e^- fazlasını bir başka elektron alıcısına vererek tekrar O_2 'ye oksitlenebilir.

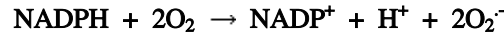
$O_2^{\cdot-}$ 'nin, ferröz demir (Fe^{+2}) ve Cu^+ gibi geçiş metallerinin otooksidasyonu ile de oluşabileceği gösterilmiştir (145). Bu reaksiyonlar geri dönüşümlüdür. $O_2^{\cdot-}$, geçiş metal iyonlarını indirgeyerek bağlı oldukları proteinlerden salınımlarına neden olur ve metal iyonlarının katıldığı OTI yapım tepkimelerini hızlandırır (147).



Hidrokinonlar, flavinler, tiyoller, katekolaminler ve ferrodoksinler gibi indirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek e^- verip kendileri oksitlenirken $O_2^{\cdot-}$ oluşur.

Pek çok enzimin katalitik etkisi sırasında $O_2^{\cdot-}$ bir ürün olarak da oluşabilir.

Aktive edilen fagositik lökositler antibakteriyel etki için NADPH (β -Nikotin Amid Dinükleotid Hidrojen Fosfat) oksidaz enzimi aracılığıyla bol miktarda $O_2^{\cdot-}$ üretirerek fagozom içine ve buldukları ortama verirler (148,149).



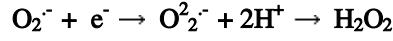
$O_2^{\cdot-}$ hücre membranlarından kolayca geçemediği için zararlı etkisi oldukça düşük bir radikaldir.

$O_2^{\cdot-}$ bir proton (H^+) alarak HO_2^{\cdot} 'yi oluşturur. Oldukça reaktif olan bu radikal hücre zarlarında LP'yi başlatabilir ve zarsal antioksidanları oksitleyebilir.

$O_2^{\cdot-}$ 'nin fizyolojik bir serbest radikal olan NO^{\cdot} ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türevidir olan $ONOO^-$ oluşur.



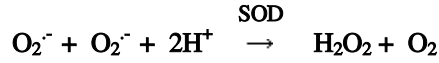
$O_2^{\cdot-}$ bir e^- daha alarak peroksil anyonu (O_2^{2-})'nu oluşturabilir, bu da ortamdaki iki H^+ alarak H_2O_2 oluşumuna neden olur (150).



O_2^- hafif asidik koşullarda, 'spontan dismutasyon' denilen enzimatik olmayan bir reaksiyon ile ortamdaki temizlenebileceği gibi,

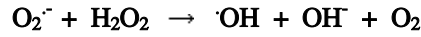


SOD enzimi ile enzimatik olarak da dismutasyona uğratılır.

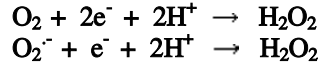


O_2^- nun enzimatik olarak temizlenmesi, spontan olarak temizlenmesinden yaklaşık 10^4 kez daha hızlıdır (151).

O_2^- ile H_2O_2 , 'Haber-Weiss reaksiyonu' ile daha potent bir radikal olan $\cdot\text{OH}$ 'yi oluşturur.



Hidrojen Peroksit (H_2O_2): Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki e^- veya O_2^- nin bir e^- alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü de iki H^+ ile birleşerek H_2O_2 'yi meydana getirir.



Ancak biyolojik sistemlerde H_2O_2 nin asıl üretimi daha önce bahsedildiği gibi O_2^- nin spontan veya enzimatik dismutasyonu ile olmaktadır (151).

H_2O_2 , serbest radikal olmadığında ROS içine girer. Genellikle tek başına organik molekülleri okside etmek için yeteri kadar reaktif olmasa da biyolojik olarak önemli bir oksidandır. H_2O_2 , O_2^- ye nazaran düşük elektriksel yükü ve non iyonize özelliklerinden dolayı biyolojik membranlardan daha kolay geçebilir ve daha uzun ömürlüdür.

H_2O_2 , direkt kendisinin toksisitesinden ziyade geçiş grubu metal iyonları varlığında $\cdot\text{OH}$ gibi daha reaktif radikallerin üretimine katkıda bulunur.

İstenmeyen H_2O_2 nin uzaklaştırılması CAT ve selenyum bağımlı GSH-Px'in aktiviteleri ile sağlanır.

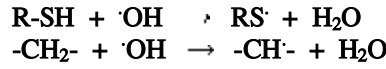
Hidroksil Radikali (·OH): İlk olarak 1934 yılında Haber ve Weiss adlı araştırmacıların gösterdikleri, kendi adları ile anılan reaksiyon ile ortaya konmuştur. Bilindiği gibi en kısa yarı ömre (1×10^{-9} sn) sahip olan ·OH biyolojik sistemlerde rastlanılan en etkili oksijen radikalidir ve makromoleküller ile kolaylıkla reaksiyona girer (139).

·OH'nin, hücrede yaygın olarak iki önemli biyolojik kaynağı vardır: (152)

1. $H_2O_2 + O_2^- \rightarrow \cdot OH + OH^- + O_2$ (Haber-Weiss Reaksiyonu)
2. $Fe^{+3} + O_2^- \rightarrow Fe^{+2} + O_2$
 $Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+3} + \cdot OH + OH^-$ (Fenton Reaksiyonu)

Haber-Weiss reaksiyonu genellikle fizyolojik durumlarda yavaştır. Fakat geçiş metalleri, metal şelatörler veya hemaproteinlerin katalizlediği Fenton reaksiyonu oldukça hızlıdır. Bu reaksiyonda ferrik demir (Fe^{+3}), O_2^- tarafından Fe^{+2} ye indirgenirken H_2O_2 , ·OH'ya dönüşür (153,154).

·OH, tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşumuna neden olmaktadır.



Singlet Oksijen (1O_2): Dışarıdan enerji alınımı sonucu, O_2 nin paylaşılmamış dış e^- lerinin birinin kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi ile 1O_2 oluşur (147,155). Bu durumda dış e^- ler aynı veya aynı yörüngeyi işgal edebilir (156). Yapısında eşleşmemiş e^- içermediğinden serbest radikal değildir. Ancak oksijenin oldukça reaktif bir formudur. Spin kısıtlaması (paralel spinlerde iki eşleşmemiş e^- bulunması) ortadan kalktığı için okside edici yeteneği fazladır. 1O_2 nin oluşumu fotokimyasal reaksiyonlarda önemlidir.

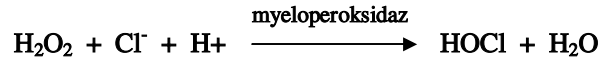
1O_2 , O_2^- nin dismutasyonu ve hidroperoksitlerin metaller varlığındaki tepkimeleri ile oluşabilir.

1O_2 , serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da neden olmaktadır (147,155).

1O_2 , çoklu PUFA ile doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikali (ROO·)'ni oluşturur ve ·OH kadar etkin bir şekilde LP'yi başlatabilir.

Ozon (O₃): Ozon güneş ışıklarına karşı önemli bir stratosferik koruyucu kalkan olmasına rağmen yeryüzünde toksik ve okside edici bir ajandır. Kirli şehir havasında bulunan O₃, DNA, lipid ve proteinleri kolaylıkla okside etmektedir (157).

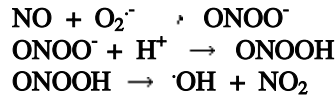
Hipoklorik Asit (HOCl): Aktif nötrofillerde vücutta üretilen güçlü bir oksidandır. Fagosit sitoplazmasındaki hcm içeren myeloperoksidaz enzimi tarafından H₂O₂ ve Cl⁻ iyonlarından sentezlenir (155).



HOCl, başta amino grupları olmak üzere çeşitli biyomoleküllere karşı oldukça güçlü bir oksidandır. Ayrıca asit pH'da kolaylıkla dekompoze olarak klorin (Cl₂) gazının salınmasına neden olur (158,159)



Nitrojen Oksitleri: Nitrik oksit (NO[•]) ve nitrit (NO₂[•]), tek sayıda e⁻ içerdikleri için serbest radikal tanımına uymaktadır. Biyolojik sistemlerde oluşan reaktif nitrojen türevlerinin en önemlisi oksidasyon değeri +2 olan NO[•] dur. NO[•] güçlü bir okside edici ajandır. Kontrolsüz üretimi sonucu proteinlerin nitrolizasyonu, DNA kırılmaları ve diğer moleküler etkileşimler ile beyin dokusunu hasarlayabilir (160) in vivo ortamda salınan NO, NO₂ veya nitrat (NO₃⁻)'a otookside olabilir. NO₂ zayıf bir redükte edicidir. Fizyolojik pH'da NO[•], bir reaktif ara ürün olan ONOO⁻'yu oluşturmak üzere O₂⁻ ile reaksiyona girebilir. Radikal olmayan ONOO⁻, güçlü bir oksidandır. Tiyol gruplarının oksidasyonu yoluyla direk sitotoksik etki gösteren ONOO⁻, çeşitli nitrojen oksit radikallerini ve •OH oluşturarak dekompoze olabilir (161). Radikalik tepkimeleri başlatmaya ek olarak ONOO⁻, biyomoleküllerin nitrasyonuna neden olur.



NO'yu ortamdaki temizleyen herhangi bir enzim yoktur. NO derişiminin artması ile oksidasyonu da hızlanır ve çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bu reaktif türler NO'nun dolaylı etkilerinden sorumludur.

NO'nun oksidan etkilerinin dışında son zamanlarda O₂⁻, •OH ve peroksil lipid radikali (LOO[•]) gibi daha reaktif ve tehlikeli radikalleri süpürme yeteneğine bağlı olarak antioksidan ve nöroprotektif etki gösterdiği de rapor edilmiştir (162).

2.2.1.3. Serbest Radikallerin Hücrelere Etkisi

1956'da Denham Harman, oksijen radikallerinin in vivo enzimatik reaksiyonların ürünü olabileceği hipotezini ortaya atmış ve serbest radikalleri Pandora'nın felaketler kutusuna benzeterek bunların büyük çaplı hücresel hasar,

mutageniz, kanser ve biyolojik yaşlanmanın dejeneratif sürecinden sorumlu olabileceğini ileri sürmüştür (163). Bu hipotezden yola çıkılarak yapılan araştırmalar ile serbest radikallerin organizmadaki önemi anlaşılmıştır.

Serbest radikaller toksik etkilidir ve yaşlanma veya çeşitli patolojik durumlarda üretimleri antioksidan savunma sisteminin kapasitesini aştığı zaman hücresel makromoleküllerden lipitler başta olmak üzere DNA, protein ve karbonhidratlar ile reaksiyona girer. Sonuçta hücrenin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğü bozulur ve geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hasarlar meydana gelir. Oksijen radikallerinin fazla yapımının neden olduğu etkilerin toplamı "oksidan stres" olarak adlandırılır (164,165). Kontrolsüz ROS artışının etkileri sonucu hücre apoptoz ya da nekroz ile ölüme gider (166).

Serbest Radikallerin Lipitlere Etkisi: Lipitler serbest radikal etkisine en hassas makromoleküllerdir. Biyomembranlar ve hücre içi organeller (mitokondri, endoplazmik retikulum, vs.) membran fosfolipidlerindeki PUFA'nın varlığı nedeniyle oksidatif hasara duyarlıdır. Membranlardaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağlarını serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluşturmaktadır.

L.P. PUFA'nın zincirleme bir radikal reaksiyonudur ve dört aşamada meydana gelir (157);

1) Başlangıç Basamağı: LP'yi herhangi bir serbest radikal (OH , RO^\cdot (alkoksil) ROO^\cdot , vb.) başlatabilir. Yağ asiti (LH) ile birleşen serbest radikal, LH'nin metilen grubu ($-\text{CH}_2$)'ndan bir H^\cdot koparır. Bu atak sonucu karbon atomu üzerinde eşleşmemiş bir e^- olduğundan karbon merkezli 'lipid radikali (L)' oluşur. Dayanıklı olan bu radikal moleküler düzenlenme ile konjuge dien şekline dönüştürülür. Bu molekül daha sonra O_2 ile reaksiyona girerek LOO^\cdot yu oluşturur (167).

2) İlerleme Basamağı: Oluşan LOO^\cdot diğer bir LOO^\cdot ile birleşebilir veya membran proteinleri ile etkileşebilir. Fakat en önemlisi LOO^\cdot nun, membrandaki komşu yan zincirlerden H^\cdot leri koparıp peroksidatif zincir reaksiyonlarını başlatmasıdır. Böylece her defasında lipit hidroperoksitleri (LOOH) ve yeni LOO^\cdot lar oluşmaktadır. Peroksidasyon bir kere başladıktan sonra otokatalitik olarak yayılabilir ve yüzlerce LH zinciri LOOH 'ya çevrilebilmektedir. Bu nedenle LP kendi kendini tetikleyen zincirleme bir reaksiyondur (155).

Peroksidasyonun ilk ürünlerinden konjuge dien ve LOOH ölçümü OS değerlendirme indekslerindedir.

3) Yıkım Basamağı: LOOH 'lar yıkılarak LO^\cdot , LOO^\cdot gibi radikaller, hidrokarbonlar, alkol ve eterin yanında Malondialdehid (MDA) ve 4-hidroksi-2-nonenal (4-HNE) gibi sitotoksik moleküllerin (167) oluşmasına neden olur. Bunlar peroksidasyonun

ikincil ürünleridir. 4-TTNP, 4-TTNP-protein konjugatlarını oluşturmak üzere sistein, lizin ve histidin rezidüleri ile etkileşir ve sonuçta protecin fonksiyonlarını inhibe eder. MDA ise, membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olmakta, membranın bazı özelliklerini değiştirmektedir. Dolayısıyla MDA hücre ve dokulardaki oksidatif hasarın bir göstergesidir. MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonu sonucunda TBARS meydana gelmektedir. Bu test ile MDA ölçümü PUPA'nın peroksidasyonunun tespit edilmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (168,169,170).

4) Sonlanma Basamağı: L.P zincir reaksiyonları, radikallerin birbirleriyle veya antioksidanlarla etkileşmesi sonucu radikal olmayan ürünlerin ya da reaktif olmayan radikallerin oluşmasıyla sonlanmaktadır.

Biyolojik membranlarda L.P, akışkanlık kaybı, membran potansiyellerinde düşüş, H⁺ ve diğer iyonların permeabilitesinde artışa ve sonuçta hücre membranının parçalanarak organellerin dışarı sızmasına neden olur (30). Bu membran hasarı geri dönüşümsüzdür ve nihayet hücre fonksiyonlarında bozukluklar ortaya çıkar. Dolayısıyla peroksidasyon hücre hasarına eşlik eder ve bunun antioksidanlarca önlenmesi hücre hasarını engelleyebilir. Bu durumda L.P'nin ölçülmesi doku hasarının iyi bir belirleyicisi olabilir.

Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi: Proteinler oksidantlara maruz kaldıklarında birçok kovalent değişikliklere uğrar. Bu değişikliklerden bazıları serbest radikallerin proteinler üzerine direkt etkileri sonucu oluşabildiği gibi, bazıları da oksidasyon yan ürünlerinin proteinlere kovalent bağlanması ile meydana gelir. Proteinlerin radikal aracı hasarı; e- kaybı ve metal-iyon katalizli reaksiyonlar ile başlatılabilmektedir (171). Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren moleküllerin serbest radikal reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallere karşı daha duyarlıdır. Aminoasitlerin oksidasyonu proteinlerde fragmentasyon, agregasyon ve proteolitik yıkıma duyarlılık gibi fiziksel değişikliklere neden olmaktadır (172,173).

Proteinlerin oksidasyonu ile özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşmaktadır. Sonuç olarak immünglobulin ve albumin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin yapıları bozulmakta ve bu proteinler fonksiyonlarını yerine getirememektedir.

Protein oksidasyonu sonucu membran enzimlerinin aktivitesi azalmakta, hücreye Ca⁺⁺ girişi artmaktadır. Hücre içi serbest Ca⁺⁺ artışına bağlı olarak zararlı etkilere sahip pek çok enzimin aktivitesi artmakta, bu da hücreyi hasara götürmektedir.

Protein karbonil içeriği ve enzimlerin oksidatif inaktivasyonu proteinler için OS indeksleridir.

Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi: Serbest radikallerin etkisiyle, α -hidroksiaklebil yapıya sahip karbonhidratlar, metal iyonları varlığında hızlı bir şekilde otooksidasyona uğrar ve bunun sonucunda dikarbonil bileşikleri ve H_2O_2 oluşur (139,174,175).

Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkisi: OS'den hem nükleer DNA hem de mitokondriyal DNA hasar görmektedir. Serbest radikaller özellikle baz hasarı ve zincir kırılmaları yoluyla hücrede gen mutasyonları, anormal protein sentezi, gen ekspresyon değişiklikleri ve apoptoza neden olur, bu da hücreyi ölüme götürür (176,177,178). İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller ile hücre içi ve dışından kaynaklanan H_2O_2 'nin, DNA üzerine etkileri bildirilmiştir (179,180).

'OH ile hasara uğrayan ve DNA'dan endonükleaz tamir enzimiyle kesilen guanin nükleotidi 8-OHdG, oksidatif DNA hasar çalışmalarını için en sık kullanılan belirteçtir (181).

2.2.2. Antioksidan Savunma Sistemi

Normal fizyolojik koşullarda hücrelerde oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Direkt etki ile oksidanları inaktif hale getiren maddelere 'antioksidan' adı verilmektedir. Vücutta oksidanlar çok çeşitli olduğu için bunlara karşı koruyucu olan antioksidanlar da oldukça çeşitlidir (182). Bu nedenle 'Antioksidan Savunma Sistemi' terimi kullanılmaktadır. Bu sisteme ait öğeler gerek hücre içinde gerekse hücre dışında çok düşük konsantrasyonlarda bile ortaklaşa etkinlik gösterirler (155).

Antioksidan savunma sistemi, yöntemlerine (serbest radikal oluşumunu önleyici, serbest radikalleri etkisizleştirici), buldukları yere (hücre içi, hücre dışı, hücre membranı) ve etki şekillerine (enzimatik, enzimatik olmayan) göre sınıflandırılabilir (183).

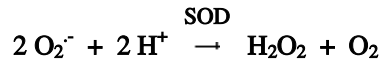
Sınıflandırmadaki bu çeşitliliğe rağmen en çok kullanılan yöntemeye dayanarak antioksidan savunma sistemi iki ana gruba ayrılır (139);

1. Primer Antioksidan Savunma Sistemi:
 - Antioksidan enzimler
 - Antioksidan bileşikler ve metaller
2. Sekonder Antioksidan Savunma Sistemi:
 - Lipolitik enzimler
 - Proteolitik enzimler
 - DNA tamir enzimleri

2.2.2.1. Primer Antioksidan Savunma Sistemi

Antioksidan Enzimler: Oksijenin hücre içinde metabolize edildiği sırada oluşan oksijen ara ürünleri ile antioksidanlar enzimatik olarak hızlı ve spesifik bir şekilde etkileşir (157).

Süperoksit Dismutaz (SOD): İlk kez 1968 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanımlanan SOD, $O_2^{\cdot -}$ nin dismutasyonunu sağlayarak H_2O_2 ve O_2 oluşum reaksiyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir (145).

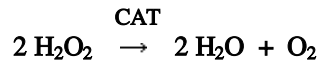


Bu reaksiyon 'oksidatif strese karşı ilk savunma' olarak da adlandırılır. Çünkü aerobik koşullarda yaşayan tüm canlılarda kaçınılmaz bir şekilde meydana gelen $O_2^{\cdot -}$ zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Katalitik aktivitesi oldukça yüksek olan SOD enzimi sayesinde hücresel kompartmanlardaki $O_2^{\cdot -}$ düzeyleri kontrol altında tutulur. SOD oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur, ancak yüksek oksijen kullanımı olan dokularda aktivitesi fazladır (147,155,184).

Ökaryotik hücrelerde aktif bölgelerindeki metal türü ve hücredeki yerleri açısından dört farklı SOD enzimi tespit edilmiştir. Kofaktörleri bakur ve çinko olan Cu/Zn-SOD intraselüler olarak sitoplazma, nükleus ve lizozomlarda, ekstraselüler olarak ise plazma membranında ve hücre dışı sıvılarda tespit edilmiştir. Bu enzimin aktivitesinden Cu, stabilitesinden Zn sorumludur. Kofaktörü mangan olan Mn-SOD ise intraselüler olarak mitokondriyal matrikste, ekstraselüler olarak ise plazma membranında bulunmuştur. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer CuZn-SOD'dur. Bu SOD izomerlerinin katalizlediği reaksiyonlar aynıdır. Bunların dışında bazı bakterilerde kofaktörü demir olan Fe-SOD saptanmıştır (140).

Katalaz (CAT): Peroksidazların bir üyesi olan CAT, yapısında dört 'hem' grubu bulunduran 220.000 Da moleküler ağırlıklı bir hemoproteindir.

SOD aracılığıyla oluşmuş olan H_2O_2 'nin bilinen potansiyel oksitleyici özelliği nedeniyle derhal ortamdaki uzaklaştırılması gerekir. CAT, H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'ye dönüşüm reaksiyonunu katalizleyerek bu fonksiyonu yerine getirir (147).

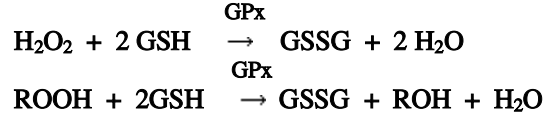


H_2O_2 seviyesinin düşük olduğu durumlarda organik peroksitler tercihen peroksidazlar tarafından, yüksek olduğu durumlarda ise CAT tarafından metabolize edilirler (139,185).

CAT'ın indirgeyici aktivitesi H_2O_2 'nin yanı sıra metil-, etil-hidroperoksitler gibi küçük moleküllü hidroperoksitleri de içine alır.

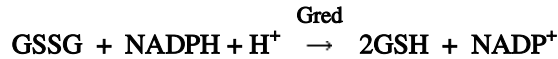
CAT, esas olarak peroksizomlarda lokalizedir ancak sitoplazmada da saptanmıştır. Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye sahiptir. Ayrıca enzimler arasında CAT'ın en yüksek katalitik dönüşüm hızına sahip enzim olduğu bildirilmiştir.

Glutatyon peroksidaz (GPx): GPx, ilk kez 1957 yılında tanımlanmıştır. Tetramerik yapıda olan enzim, H_2O_2 ve büyük moleküllü hidroperoksitlerin indirgenme reaksiyonlarını katalizler (139, 186).

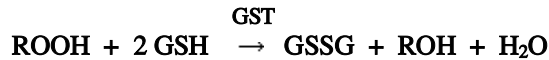


GPx'in 85.000 Da moleküler ağırlıklı sitozolik formuna ilaveten böbreklerde sentezlenen ve salınan 90.000 Da moleküler ağırlıklı bir plazma formunun varlığı da gösterilmiştir (187,188). Selenyum bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki tipi mevcuttur. Selenyuma bağımlı formu katalitik aktivitesi için selenyuma ihtiyaç duyar (139,182). GPx, karaciğerde en yüksek, kalp, akciğer ve beyinde orta, kasta ise düşük aktivitede bulunur.

GPx'in katalizlediği reaksiyon sırasında meydana gelen okside glutatyonun (GSSG)'un ileride kullanılmak üzere tekrar GST'ya dönüştürülmesi gereklidir. Çünkü organizmanın GST deposu sınırlıdır. Bu fonksiyonu Glutatyon redüktaz (Gred) enzimi yerine getirir. Bir flavoprotein olan Gred enzimi, NADPH varlığında GSSG'yi tekrar GSH'ya çevirir. Yaklaşık olarak 104.000 Da moleküler ağırlıklı Gred enzimi 2 alt ünitelerden oluşan dimerik yapıda bir enzimdir (189).



Glutatyon-S-Transferaz (GST): GST, ilk kez 1961 yılında tanımlanmıştır. Dört farklı alt birimden oluşan 101.000 Da moleküler ağırlıklı bir enzim ailesidir (190,191). Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadır. Başta araşidonik asit (AA) ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksitler (ROOH)'e karşı Se-bağımsız GPx aktivitesi gösterir.



Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz: Mitokondriyal sitokrom oksidaz enzimi solunum zincirinin son komponentidir. Enzim, e^- lerini O_2^- ye vererek O_2^- nin

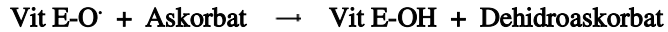
detoksifikasyonunu sağlar. Normal koşullarda sürekli meydana gelen bu reaksiyon sayesinde yakıt maddelerinin oksidasyonu tanımlanarak bol miktarda enerji üretimi sağlanır. O_2^- üretiminin bu enzimin kapasitesini aştığı koşullarda ise diğer antioksidan enzimler devreye girerek O_2^- in zararlı etkilerine engel olur (147).

Antioksidan Bileşikler ve Metaller: Bu gruba ait moleküller ve iyonlar ekzojen ve endojen kaynaklı olarak organizmada bulunur ve oksidantlara karşı enzimatik olmayan bir savunma sergiler. GSH, çeşitli vitaminler, melatonin, niasin, triptofan, riboflavin, α -lipoik asit, biyoflavonoidler, koenzim Q, ürik asit, seruloplazmin, ferritin, bilirubin, transferrin ve laktoferrin, haptoglobulin, hemopeksin, albumin, sistein, sitokin, L-Arginin gibi biyomoleküller ve Se, Cu, Zn, Mn gibi iyonlar bu grup içerisinde sayılabilir.

Glutatyon (GSH): GSH, tüm hücrelerde bulunan düşük moleküler ağırlıklı bir tiyoldür. Başlıca intrasetiller antioksidan GSTI, ekstrasetiller mesafede çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. Glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden meydana gelen GSH'ya antioksidan özelliğini sisteinin tiyol grubu kazandırır.

GSH, $\cdot OH$, O_2^- , ve H_2O_2 gibi bileşiklerle etkileşerek indirgeyici etki gösterir, böylece hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Peroksitlerin GPx ile redüksiyonu sırasında e^- donörü olarak görev alır. Bunun dışında proteinlerdeki SII gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı muhafaza eder. GSTI, demirin Fe^{+2} halde tutulmasını sağlayarak protein ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Ayrıca A vitamini gibi antioksidanların yükseltgenmiş formdan indirgenmiş forma geçmesini sağlayarak antioksidan etki gösterir.

C Vitamini (Askorbik Asit): Suda eriyen vitaminlerden olan C vitamini çok güçlü bir indirgeyici ajandır. $ROO\cdot$, O_2^- , $\cdot OH$, 1O_2 ve $ONOO^-$ ile kolayca reaksiyona girerek ortamdaki temizler. Ayrıca C vitamini tokoferoksil radikalinin tokoferole redüklenmesini sağlayarak yükseltgenmiş E vitamininin antioksidan özelliklerini yeniler (192).

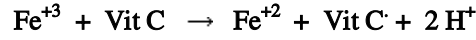


C vitamininin antioksidan etkisinin yanında oksidan etkisi de söz konusudur. Çünkü C vitamini Fe^{+3} ü, Fe^{+2} ye indirgeyen O_2^- dışındaki tek hücresel ajandır.



Bu yolla C Vitamini proteine bağlı Fe^{+3} ü uzaklaştırarak ya da doğrudan indirgeyerek Fenton reaksiyonunda H_2O_2 ile etkileşmeye uygun olan Fe^{+2} ye dönüştürür. Sonuç olarak O_2^- üretimine katkıda bulunur.

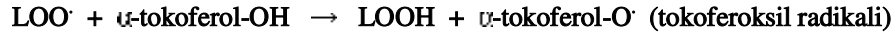
C vitamininin Fe^{+3} ile doğrudan reaksiyonuyla çok reaktif olmayan C vitamini radikali (Vit C) de oluşur.



C vitamini oksidasyonundan H_2O_2 de meydana gelebilir.



E Vitamini (Tokoferol): Yağda eriyen vitaminlerden olan E vitamini, tokoferol yapısında olup α , β , γ ve δ olmak üzere 4 tipin karışımıdır. α -tokoferol doğal dağılımı ve antioksidan etkisi en fazla olanıdır. Yapısında bulunan fenolik hidroksil grublu aromatik halka E vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve güçlü antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır. E vitamini hücre membran fosfolipidlerinde bulunan PUFA'yi serbest radikal etkisinden koruyucu ilk savunma hattını oluşturmaktadır (193). Bir molekül E vitamini 100 molekül yağ asidinin peroksidasyonunu önleyebilir. E vitamini, $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$, 1O_2 , LOO^{\cdot} ve diğer radikalleri indirger. LOO^{\cdot} lan yıkarak LP zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı için 'zincir kırıcı antioksidan' olarak da tanımlanır.



Oluşan α -tokoferol- O^{\cdot} stabildir ve LP'yi başlatmak için yeterince reaktif değildir. E vitamini bir kez oksitlenince radikal formunu alır. ancak C vitamini sayesinde tekrar fonksiyonel redükte formuna çevrilir (194).

A Vitamini (β -Karoten): Yağda eriyen vitaminlerden ilk bulunanıdır. A vitamininin ön maddesi olan β -karoten son derece güçlü 1O_2 temizleyicisidir. Bu özellik görülebilir ışığın, oksijenin ve çeşitli fotosensitizörlerin etkileşimini takiben 1O_2 nin oluştuğu retina için önemlidir (195). Bunun dışında A vitamini, $\cdot OH$, ROO^{\cdot} ve RO^{\cdot} ile doğrudan reaksiyon verip LP zincir reaksiyonunu önleyebilir (139).

2.2.2.2. Sekonder Antioksidan Savunma Sistemi

Sekonder savunmanın temel işlevi OS'nin yarattığı hasarlı yapıları ortadan kaldırmak ve hücrelerde birikmesini önlemektir. Pek çok lipolitik (fosfolipazlar), proteolitik (proteazlar, peptidazlar) ve DNA tamir enzimleri (endonükleazlar, ekzonükleazlar, ligazlar) bu savunmada rol almaktadır (139,196).

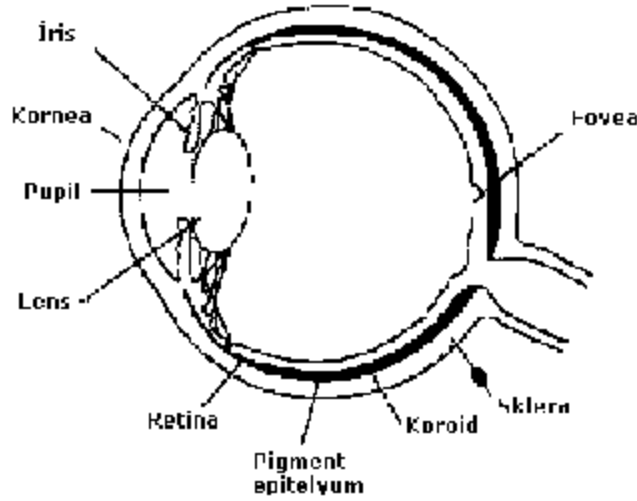
2.2.3. Oksidatif Stres ve Nörodejenerasyon İlişkisi

Çeşitli nörodejeneratif bozukluklara sahip hastaların post-mortem çalışmalarında OS belirteçleri tespit edilmiştir (197). En yaygın nörodejeneratif hastalıklardan biri olan TTT'yi de OS ile ilişkilendiren pek çok yaygın bulunmaktadır. PTT, beyin yanı sıra görsel sistemi de etkilemektedir.

2.3. Görsel Sistem ve Görsel Uyarılma Potansiyelleri

2.3.1. Görme Sistemi

Görsel sistem duyu sistemleri içerisinde en karmaşık yapıya sahip olan sistemdir. Görme organı olan göz, ışığı odaklayan mercek sistemine, bu ışığı algılayan reseptör tabakasına ve uyarıları reseptörlerden beyine ileten bir sinir sistemine sahiptir (198). Göz dıştan içe doğru sklera, koroid ve retina olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır (Şekil 2.8).

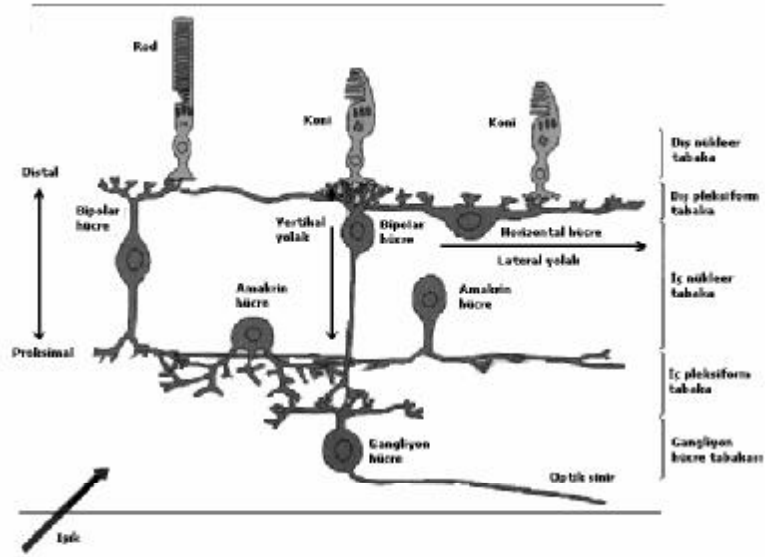


Şekil 2.8. Gözün yapısı (199)

Sklera gözün ön tarafında korneayı oluşturur. Kornea ve lens göze gelen ışığı kırarak, retina üzerine düşürür. Lensin ışığı retinanın üzerine düşürmek için şeklini değiştirmesine 'akomodasyon' denir. Lensin şekli lense zonuler liflerle bağlı olan silyer kaslar ile kontrol edilmektedir. Silyer kaslar, beyin sapındaki üçüncü kafa çiftinin çekirdeğinden (edinger westpal) göze iletilen parasempatik sinir sinyalleri ile denetlenmektedir. Silyer kaslar kasıldığında lensin küreselliği artar ve yakındaki nesnelerin görülmesi sağlanır; gevşediğinde ise lensin küreselliği azalır ve uzaktaki cisimler görünür kılınır (200).

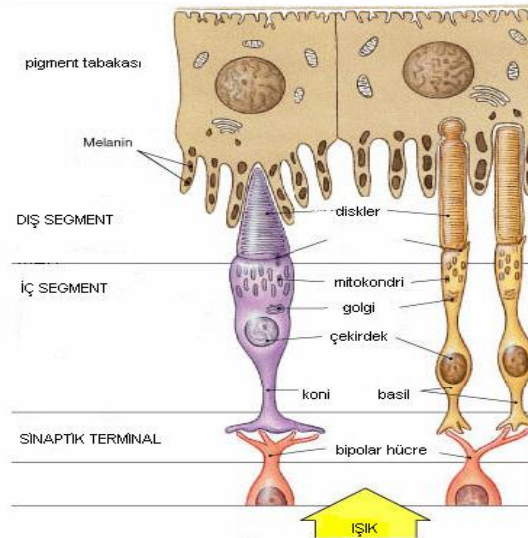
Göze gelen ışık miktarı pigmentli bir kas olan iris tarafından kontrol edilmektedir. İrisin ortasında pupil (göz bebeği) olarak adlandırılan ışığın göze girdiği bölge bulunmaktadır. Pupil, göze fazla ışık geldiğinde daralarak, az ışık geldiğinde ise genişleyerek giren ışık miktarını ayarlar (198).

Işık gözün mercek sistemini ve vitröz ortamı geçtikten sonra gözün en iç tabakası olan retinaya girer. Öncelikle ganglion hücrelerinden, pleksiform ve nükleer tabakalardan geçen ışık, koni ve basil tabakasına ulaşmadan önce sınırlayıcı zarlardan geçer (Şekil 2.9).



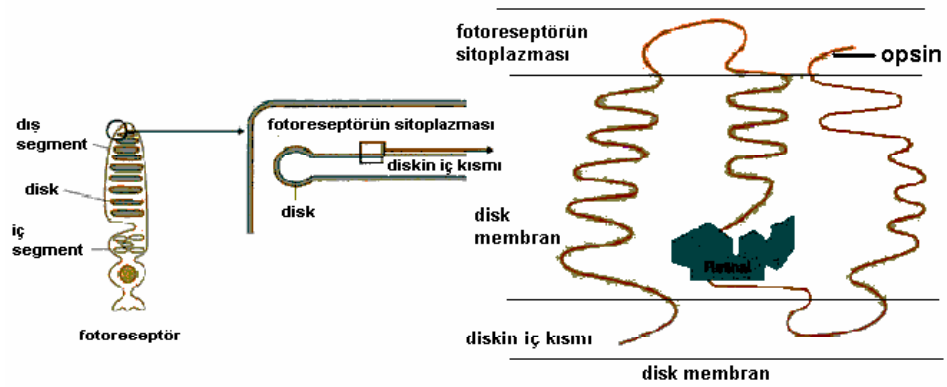
Şekil 2.9. Retinal nöronların organizasyonu ve ışığın retinada izlediği yol (199)

Retina gelen ışığı algılayan reseptörlere ve uyarıları beyne ileten sinirlere sahiptir. Bu reseptörler koni ve basıl (rod) olmak üzere iki tiptir (Şekil 2.10). Karamlıkta (siyah-beyaz) görmekten sorumlu olan basiller ışığa oldukça duyarlıdır ve çok düşük ışık şiddetinde bile uyarılmaktadır. Renkli görmeyi sağlayan koniler ise ışığa daha az duyarlıdır ve ancak çok parlak ışıkta uyarılmaktadır. Basıl ve koniler uyarıldıklarında sinyaller retinadaki ardışık nöronlara, sonra optik sinir liflerine, en son olarak da beyin korteksine iletilmektedir (198). Basıl ve koniler dış segment, iç segment ve sinaptik terminal olmak üzere 3 bölümden oluşmaktadır (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Koni ve basillerin bölümleri (201)

Dış segmentte, retinaya paralel olan disk denilen zarlarda ışığa hassas fotokimyasal maddeler (fotopigment) bulunmaktadır. Basillerde ışığı absorbe eden fotopigment rodopsindir. Rodopsinin protein kısmı opsin, ışığa duyarlı kısmı ise retinaldir. Konilerde de rodopsine çok benzeyen, protein kısmı opsin ancak ışığa duyarlı kısmı 11-*cis* retinal olan bir fotopigment bulunmaktadır. Basillerde tek tip, konilerde ise 3 tip opsin vardır. Bu nedenle kırmızı ışığa (L tipi), yeşil ışığa (M tipi) ve mavi ışığa duyarlı (S tipi) olmak üzere 3 tip koni söz konusudur (199). Opsin kromofor molekülünü saran integral bir proteindir. Kromofor ise fotopigmentin ışığa duyarlı esas kısmı olup A vitamini türevidir olan retinali içermektedir. Retinale gelen ışığı opsin filtre eder (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Retinal ve opsin (199)

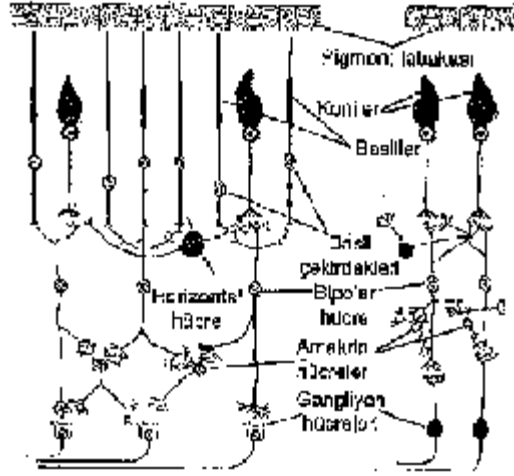
Basil ve konilerin iç segmenti, stoplazmayı ve stoplazmik organelleri içerir. Bu segmentteki mitokondriler fotoreseptör işlevi için enerji sağlamada önemli rol oynamaktadır. Retinada fotoreseptörlerin dışında bipolar, horizontal, amakrin ve ganglion hücreleri olmak üzere 4 farklı nöron daha bulunmaktadır. Basil ve konilerin sinaptik gövdeleri horizontal ve bipolar hücrelerle bağlantıyı sağlar ve görme zincirinin bir sonraki aşamasını temsil eder (200). Fotoreseptörlerin her ikisi de ışığa maruz kaldıklarında parçalanmış kimyasal maddeler içerir ve sonuçta gözden çıkan sinir liflerini uyandırır. Işık enerjisi rodopsin tarafından soğurulduğunda saniyenin trilyonda biri kadar bir süre içerisinde parçalanmaya başlar. Bunun nedeni rodopsinin retinal bölümündeki elektronların ışıkla aktive olmalarıdır. Bu durum retinalin sis şeklinin hep-trans şekline değişimine yol açar. Hep-trans retinal düz bir molekül olduğu için opsinle yapısı uyumlanmadığından opsinle uzağa çekilmeye başlar. Çeşitli parçalanma reaksiyonları sonucunda aktive olmuş rodopsin (metarodopsin II) oluşur.

Aktif rodopsin, transdusin (G proteini)'i aktifleştirerek fosfodiesteraz enziminin aktive olmasını sağlamaktadır. Bu enzim, cGMP'yi hidrolize ederek konsantrasyonunu düşürür. cGMP bağımlı kanallar (Na ve Ca) kapanır ve fotoreseptör hiperpolarize olur. Hiperpolarizasyon fotoreseptörün ucuna pasif olarak iletilir ve hücreden nörotransmitter salınımı azalır.

Ca kanallarının kapanması nedeniyle sitozolik Ca konsantrasyonundaki düşüş, Ca'ya duyarlı proteini aktifleştirerek, guanilat siklaz (GC)'a bağlanmasına ve daha fazla cGMP üretilmesine neden olur. Bu da Na ve Ca kanallarının tekrar açılmasını sağlar. Böylece hücreler tekrar dinlenme durumuna dönerler (198). Bu şekilde oluşan sinyaller gangliyon hücrelerine ulaşmaktadır.

2.3.1.1. Görme Sisteminin Nöral Yolu

Nöral yolak basiller ve konilerle başlar. Bu fotoreseptörler sinyalleri dış pleksiform tabakaya iletirken hem birbirleriyle hem de bipolar ve horizontal hücreler ile sinaps yapar (Şekil 2.12). Horizontal hücreler sinyalleri dış pleksiform tabakada, basil ve koniler aracılığıyla bipolar hücre dendritlerine yatay olarak iletir. Bipolar hücreler gelen sinyalleri, gangliyon ve amakrin hücreler ile sinaps yaptıkları iç pleksiform tabakaya iletir. Amakrin hücreler, sinyalleri 2 doğrultuda ileten bipolar hücrelerden doğrudan gangliyon hücrelerine ya da iç pleksiform tabaka içindeki bipolar hücre aksonları, gangliyon hücrelerin dendritleri ve/veya diğer amakrin hücreler arasında iletmektedir. Gangliyon hücreleri ise çıkış sinyallerini retinadan optik sinir aracılığıyla beyne iletir (200).



Şekil 2.12. Retinanın nöral organizasyonu (200)

Retinal gangliyon hücreleri, büyük gangliyon hücreleri (Magno = M) ve küçük gangliyon hücreleri (Parvo = P) olmak üzere 2 tip hücreden oluşmaktadır. P hücreleri cismin merkezindeki küçük ve hareketsiz uyarıları alarak renk, yapı ve ince detaylarla ilgili bilgiyi iletmektedir. M hücreleri ise, cismin kenarındaki hareketli ve büyük uyarıları alarak uyarının genel özelliklerini ve hareketini tanımlamaktadır. Dolayısıyla M hücreleri 3 boyutlu görme ile ilişkilidir.

Gangliyon hücrelerinin aksonları, beyne giden optik siniri oluşturmaktadır. İki optik sinirin kesiştiği noktaya optik kiazma denir. Optik kiazmada retinanın nazal

yarısından gelen lifler çaprazlaşarak dorsal genikulat çekirdeğe (dLGN) geçerken; retinanın temporal yarısından gelen lifler çaprazlaşma yapmadan dLGN'ye girerek sinaps yapmaktadır.

Altı nükleer tabakaya sahip olan dLGN'nin iki temel işlevi vardır:

1. Optik traktusun görsel bilgisini, optik radyasyon (genikülokalkarin traktus) yolu üzerinden primer görme korteksi (V-1)'ne iletmek
2. Görsel bilgi sinyallerinin ne kadarının kortekse geçeceğini kontrol etmek

Primer görme korteksini çepeçevre saran alana sekonder görme alanı (V-2) denir. Görsel asosiasyon alanı olarak da bilinen bu bölge primer görme korteksinden gelen uyarıların analizinin yapıldığı yerdir.

2.3.2. Görsel Uyarılma Potansiyelleri (VEP)

VEP, görsel bir uyarama yanıtı olarak optik yolak ve korteksin oksipital bölgesinde oluşan elektriksel potansiyeller olarak tanımlanmaktadır (202). VEP için görsel uyarılmış yanıt, görsel uyarılmış kortikal potansiyel veya kortikal potansiyel gibi farklı adlandırmalar da kullanılmaktadır.

VEP, ilk kez 1934 yılında Adrian ve Matthews tarafından ortaya konmuştur (203). Gelişen bilgisayar teknolojilerine paralel olarak VEP, görsel sistem fizyolojisinin anlaşılması için sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. VEP'in avantajlarından biri görme ile ilgili farklı yönlerin tek bir hayvanda ardışık olarak test edilebilmesidir. Özellikle post-retinal fonksiyon, VEP ile objektif olarak değerlendirilebilmektedir ve santral görsel yolak fonksiyonunu değiştiren herhangi bir görsel yolak hastalığı VEP cevaplarını etkileyebilmektedir. Örnek olarak VEP, teknik görme keskinliğinin belirlenmesinde, makuler dejenerasyon, renk körlüğü ve retinülber nöri gibi oftalmolojik hastalıkların yanında optik nörit, iskemik optik nöropati gibi hastalıkların araştırılmasında da kullanılmaktadır (204).

2.3.2.1. Görsel Uyarılma Potansiyellerinin Kaydı

Normal bir VEP elde etmek için retinadan primer görsel kortekse uzanan görsel yolağın hasar görmemiş olması gerekmektedir.

VEP kaydı alabilmek için;

- a) Kontrollü, genellikle kısa bir duysal uyaran kullanmak
- b) Sinir sisteminin uygun bölgesinden elektriksel sinyalleri kaydetmek
- c) Küçük (1-20 μ V) ve gözden kaçabilme eğilimindeki uyarılmış potansiyelleri, bunlarla etkileşen elektriksel sinyallerden elemine etmek gereklidir.

VEP kaydında, uygun şekilde yerleştirilmiş elektrotlar, bir diferansiyel amplifikatör, bir analog/dijital dönüştürücü, sinyalleri görüntülemek ve kaydetmek

için bir bilgisayar ve sinyallerin ortalamasını almak için bir sumasyon cihazı gereklidir.

VEP kaydında aktif ve referans elektrotlar arasındaki potansiyelin cebirsel farkı tayin edilmektedir. Aktif elektrot, nöral ve diğer sinyalleri içeren potansiyelleri (kas, artefakt, interferans) toplarken, inaktif elektrot nöral sinyaller dışındaki tüm potansiyelleri almaktadır. Bunun sonucunda yalnızca oksipital korteksin nöral aktivitesi yansıtılmaktadır. VEP kayıtlarında kullanılan iki tip elektrot düzeneği vardır. Bunlara referansın konumuna bağlı olarak monopolar veya bipolar kayıt denir. Monopolar kayıta, elektrotlardan biri kortikal bölgeye, referans ise kulak veya mastoid gibi kortikal olmayan bir bölgeye yerleştirilirken, bipolarda elektrotların ikisi de kortikal bölgeye yerleştirilmektedir.

VEP'lerde ortaya çıkan dalga formlarının değerlendirilmesi için kullanılan en önemli parametreler tepeden tepeye genlik değerleri (a) ve latens (t) değerleridir. Latens, bir uyarı verildikten sonra oluşan dalga formunun, maksimum genliğe ulaştığı süredir.

Dalga formları, polarite ve ortaya çıkış zamanlarına göre adlandırılmaktadır. Dalgalar, polaritelerine göre negatif (N) ve pozitif (P) olarak değerlendirilirken, ortaya çıkış zamanlarına göre üç gruba ayrılmıştır (205). Görsel uyarımı takiben ilk 10 ms'lik zaman diliminde ortaya çıkan dalgalar kısa latensli (erken), uyarıdan 10-50 ms sonra oluşanlar orta latensli ve 50-300 ms'lik süre içinde oluşanlar ise uzun latensli dalgalar olarak isimlendirilmektedir (205). VEP kayıtlarında ilk görülen dalganın pozitif olması nedeniyle bu ilk bileşen P₁ olarak, diğer bileşenler ise polariteleri ve ortaya çıkış sürelerine göre N₁, P₂, N₂, P₃, N₃ şeklinde isimlendirilmektedir.

Uyaran Modaliteleri: Uyaran modalitelerine göre 3 tip uyarılmış yanıt vardır(206):

- A) **Flaş Uyarılma Potansiyelleri (Flash Evoked Potentials: FEPs):** Flaş ışığının kısa aralıklarla yinelenmesi ile elde edilmektedir. Işığa fiksasyon ve görme keskinliği kritik faktörler olmadığından hayvan modelleri için uygun bir yöntemdir.
- B) **Patern Değişimli Uyarılmış Potansiyeller (Pattern-Reversal Evoked Potentials: PREPs):** Bir TV ekranında oluşturulmuş ve dönüşümlü olarak birbirini izleyen şekilli uyaran (dama tahtası) ile elde edilmektedir. Işığa adaptasyon düzeyi ve uyarana odaklanmanın önemli olduğu bu yöntem insan ve hayvanlarda kullanılmaktadır.
- C) **Sinüzoidal Dalga Izgaraları Uyarılmış Potansiyelleri (Sine Wave Gratings Evoked Potentials: SWEPs):** Bir TV ekranında kayan izgaralar kullanılarak elde edilmektedir. Şekil ve harekete yönelik spesifik fonksiyonların belirlendiği yöntem insan ve hayvanlarda kullanılmaktadır.

Klinik testlerde daha çok yekil değişmeli uyaranlar kullanılmaktadır. Çünkü bu potansiyeller görsel yol lezyonlarını göstermede daha duyarlı olup, denekler arasında çok fazla değişkenlik göstermemektedir. Şekilsiz flaş ışığı uyaranı ise genellikle hayvan deneylerinde tercih edilen bir yöntemdir.

2.3.2.2. Görsel Uyarılma Potansiyellerini Etkileyen Faktörler

VEP değerlendirmeleri açısından bireyler arasında bir takım farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Bu farklılıklar deneğin dikkati, adaptasyonu, elektrot yerleşimleri ve kas artefaktına bağlı olabilir. Mutlak VEP genliklerini klinik normlarda değerlendirmek zordur. Dolayısıyla genlikten daha az değişken olan latenslerin değerlendirilmesi bu problemin çözümü olabilir. Uyaran modalitelerine ek olarak VEP'leri etkileyen diğer faktörler Çizelge 2.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.1. VEP'leri etkileyen faktörler

Uyaran türü	Flaş uyarılarla kaydedilen VEP'lerde latensler daha kısa, genlikler daha fazladır (202).
Parlaklık	Flaş ışığının parlaklığı artarsa, VEP dalgalarının genlikleri artar, latensleri azalır (202).
Uyarının verilme sıklığı	Frekans artarsa dalga formlarının kompleksliği azalarak daha sinüzoidal dalga formları oluşmaktadır. Düşük frekanslarda ise polifazik dalga formları oluşmaktadır (202).
Dalga boyu	Parlaklık fotopik seviyede (ışığa adaptasyon) tutulduğu zaman uyarının dalga boyu değiştirilirse, VEP spektral hassaslık 570 nm'de ortaya çıkarak pik oluşmaktadır. Fotopik spektral hassaslık retinadaki konilerin aktivasyonunu göstermektedir. Parlaklık skotopik seviyede (konilerin eşik değerinin altında) tutulursa maksimum VEP hassaslığı 500 nm'de olur. Bu durumu, konilerin spektral duyarlılığı ile uyum içindedir. Farklı dalga boylarında fotopik parlaklıkta konilerin mavi, kırmızı ve yeşil ışığa verdiği yanıtlar farklıdır (202).
Optik kalite	Optik kalite azaldığı, yani uyaran bulanıklaştığı zaman, VEP bileşenlerinin genlikleri azalmaktadır. Bu faktör, kırılma hatalarını belirlemede önemlidir (202).
Karelerin büyüklüğü	Dama tablasındaki karelerin alanı büyüdükçe ve küçüldükçe, VEP dalgalarının genlikleri azalmaktadır (202).
Retinal lokasyon ve alanın büyüklüğü	Uyarının alanındaki azalmalar genlikte bir değişikliğe neden olmaz, ancak uyarının retinasını merkezinin dışına konulması durumunda genlik düşmektedir (202).
Cinsiyet	Erkek deneklerden alınan VEP kayıtlarında, latensin daha uzun, genliğin ise daha küçük olduğu gözlenmiştir (207).
Vücut sıcaklığı	Azalan vücut sıcaklığı ile bileşenlerin latenslerinin arttığı, genliklerinde ise belirgin farklılıklar olmadığı görülmüştür (207).

2.3.2.3. Görsel Uyarılma Potansiyellerinin Önemi ve Kullanım Alanları

VEP kaydı, görsel sistemin elektriksel aktivitesini çalışmak için objektif ve non-invaziv bir yöntemdir. Ampliopi, PREP ile erken yaşlarda saptanabilmekte, alan defektleri PEP ve PREP ile gösterilebilmekte ayrıca yeni doğan çalışmalarında insan görme keskinliğinin gelişimi izlenebilmektedir. Diğer taraftan PEP kaydı hayvan modelleri için oldukça kullanışlıdır. Fare ve insan gözü, hücre tipleri, yapısal özellikleri ve retinadan kortekse uzanan görsel yolları açısından oldukça benzerdir. Bu benzerliklerden faydalanılarak insan görsel yolak patofizyolojisinin değerlendirilmesi yapılabilmektedir.

2.3.2.4. Parkinson Hastalığı ve Görsel Sistem

Striatal DA eksikliğinden kaynaklanan PH, başlıca motor sistem bozukluğu ile karakterize edilse de bunun yanında duysal yetersizlikleri de beraberinde getirmektedir. İlk kez 1975 yılında Ansari ve Johnson tarafından Parkinsonlu hastaların olfaktöri duyarlılıklarının azaldığı tespit edilmiştir (208). Retinada dopaminerjik nöronların keşfinden sonra ise Bodis-Wolner ve Yahr Parkinsonlu hastaların VEP latenslerinin uzadığını tespit etmiş; böylece bu hastaların görsel yetersizlikleri VEP kayıtları aracılığıyla doğrulanmıştır (6).

İnsan retinası interpleksiform tabakadan amakrin hücre grubuna kadar dopaminerjik nöron içermektedir; bu nöronların görme modülasyonuna katkıda bulunduğu düşünülmüştür (209). DA, retinanın çevresindeki çoğu yapıyı etkilemektedir. Ayrıca omurgalıların retinasında esas nörotransmitter veya nöromodülatör olarak işlev gördüğü belirtilmiştir (210). DA yolları, görsel yolaktaki ilk sinaptik seviyede merkez-çevre organizasyonunun başlanmasında önemli rol oynamaktadır. Horizontal ve amakrin hücreler arasındaki gap-junction'lardaki iletimi değiştirmekte; horizontal hücreye glutamaterjik fotoreseptör girişlerini güçlendirerek hücre zamanı uyarılmasını sağlamakta ve bu şekilde ışığa karşı cevapların büyüklüğünü azaltmaktadır. DA ayrıca, bipolar hücrelerdeki iyonotropik glutamat reseptörlerinin cevaplarını güçlendirmektedir (210,211). Koni kasılmaları, pigment epitelinde melanin hareketi, Na⁺-K⁺-ATPaz aktivitesi, rodopsin gen üretimi gibi işlevleri söz konusudur (210,211,212). DA'nın retina hücrelerinin yaşamının devamlılığının, gözün gelişiminin ve sirkadien ritmin sağlanmasında önemli görevlere sahip olduğu da bildirilmiştir (213). Retinadaki dopaminerjik hücreler aynı zamanda GABA içermektedir, yani retinada GABA ve DA birlikte bulunmaktadır (210).

SNpc'deki dopaminerjik nöronların kaybına ek olarak PIT'da retina DA seviyesinde azalma meydana gelmektedir (214).

Görsel sistemdeki DA seviyesine etki eden faktörlerden biri de ω-3 PUFA'lardır. ω-3 PUFA'ların DA metabolizmasına etki ederek DA seviyesini ve reseptör aktivitelerini artırdığı bulunmuştur. Bunun dışında ω-3 PUFA, DA taşıyıcılarının aktivitelerini artırırken MAO-B aktivitesini azaltmaktadır. Dolayısıyla bir ω-3 yağ asidi olan DHA, görsel sistemi pozitif yönde etkileyen faktörlerin başında gelir.

2.4. Çoklu Doymamış Yağ Asitleri ve Dokosaheksaenoik Asit

2.4.1. Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

İnsanların sağlıklı bir şekilde yaşamlarını sürdürebilmesi için hem hayvansal hem de bitkisel gıdaları tüketmeleri gerekmektedir. Artan ölümler neticesinde son yüzyılın yarısından itibaren çok farklı diyet programları ortaya atılmıştır. Yağlar insanların beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Vücutta enerji kaynağı olarak kullanılmalarının yanı sıra yağlar, hücre membranlarının yapısında yer alır ve yağda eriyen vitaminlerin emilmesinde fonksiyon gösterir (215).

Yağlar, yağ asitleri ve gliserolden ibaret olup, yağ asitlerinin yapısındaki karbon sayısı ve doymuşluk derecesi yağların fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirlemektedir. Yağ asitleri başlıca doğal katı ve sıvı yağlarda esterleri halinde, plazmada ise bir transport şekli olan serbest yağ asidi olarak esterleşmemiş formda bulunur. Doğal yağlarda bulunan yağ asitleri genelde düz zincir türevleri olup 2 karbonlu birimlerden sentezlendikleri için çift sayıda karbon atomu taşımaktadır. Bu zincir, doymuş yağ asitleri (SFA), tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) ve PUFA olmak üzere 3 ana gruba ayrılır. SFA ve MUFA insan vücudunda sentezlenebilmektedir. PUFA ise hücresel veya diyetel kaynağı olabilir (Şekil 2.13). PUFA biyosentezinde başlıca hücre hepatositlerdir. Ancak bu enzimatik yol vücut PUFA ihtiyacını karşılayamaz. Ayrıca bazı PUFA'lar insan vücudunda enzim (Δ -15 ve Δ -12 denaturaz) eksikliği nedeniyle sentezlenemez. Bunun yanında bitkilerle karşılaştırıldığında insan dokuları yağ asitlerini doymamış hale getirmede kısıtlı yeteneğe sahiptir. Bu durum bitki kaynağından elde edilen belirli PUFA'ların alınmasını zorunlu kılmaktadır. Diyetel alınmasına bağlı olarak doku PUFA içeriği değişebilmektedir.



Şekil 2.13. PUFA Sentezi (9)

Belirli yağ asitlerinin vücut için esansiyel olduğu ilk kez Evans ve Burr tarafından 1929 yılında ortaya atılmıştır. EPA'lar vücut tarafından üretilmezler ve dışarıdan besim ile alınmaları gerekmektedir. Bu yağ asitleri için kullanılan n-6 (omega-6, ω -6) ve n-3 (omega-3, ω -3) kısaltmaları, yağ asidi zincirinin distal ucundaki metil karbon atomundan itibaren ilk çift bağı pozisyonunu göstermektedir.

ω -3 EPA, α -linolenik asit (hep-sis-9,12,15-Oktadesatrenoik Asit), timnodonik asit (hep-sis-5,8,11,14,17-Ekosapentaenoik Asit / C20:5n-3) ve servonik asit (hep-sis-4,7,10,13,16,19-Dokosaheksaenoik Asit / C22:6n-3)'i kapsamaktadır (216). Uzun zincirli ω -3 EPA'ların diyetle alınması esansiyeldir, çünkü çift bağı A-9 pozisyonunu geçen yağ asitleri memeliler tarafından sentezlenemez. ω -3 EPA'lar soya fasülyesinin ve keten tohumunun yağı gibi bitkisel kaynaklarda bulunmaktadır. Balık yağı ise oldukça zengin bir DHA ve EPA kaynağıdır (217).

EPA'lar diyetle sağlandıktan sonra hepatik ve retinal endoplazmik retikulumlarda çift bağların eklenmesi ile desature edilir ve 2-karbon ünitelerinin eklenmesi ile PUFA'ya dönüştürülür.

İnsanlık tarihinin başlangıcından bu yana ω -6 ve ω -3 diyetlerin bir parçası olmuş ve insanlar tarafından eşit miktarlarda tüketilmiştir. Ancak son 150 yıldır bu denge ω -3 lehine bozulmuştur (218).

ω -3 ve ω -6 yağ asitleri metabolik ve fonksiyonel olarak birbirlerinden farklılık göstermektedir ve vücutta birbirlerine dönüştürülemezler.

Yağsız diyetle beslenen fareler üzerinde yapılan araştırmada büyümenin gecikmesi, böbrek fonksiyon bozuklukları, cilt sorunları ve üreme fonksiyon bozuklukları gibi rahatsızlıkların ortaya çıktığı görülmüş, ancak bu problemlerin yetersiz yağ tüketiminden değil, ω -6 eksikliğinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Araştırmalar devam ettikçe ω -3'ün de vücut için esansiyel olduğu saptanmıştır. Bugüne kadar yapılan birçok araştırma, ω -6 ve ω -3 alımı arasındaki dengenin normal büyüme ve gelişme ile kardiyovasküler hastalık riskinin azaltılması ve kronik hastalıkların iyileştirilmesi için gerekli olduğu görüşündedir (219).

Biyolojik hücre membranlarının asıl yapısal bileşenlerinden olan EPA membranların yapısal bütünlüğü ve akışkanlığı, lipid-protein etkileşimi ve enzim aktivitesi üzerine etkilidir. Ayrıca bu yağ asitleri eikozonoid (C20) yağ asitlerinin oluşumunu başlatır ve eikozonoidler olarak bilinen prostaglandinler, tromboksanlar, araşidonattan ve lökotrienler ise α -linolenattan sentezlenirler (215). Hem ω -6 hem de ω -3 yağ asitleri PUFA'ların sentezi için gereklidir (Şekil 2.13). Dolayısıyla hücre fonksiyonları için her iki yağ asidinin dengeli bir şekilde tüketilmesi gerekmektedir.

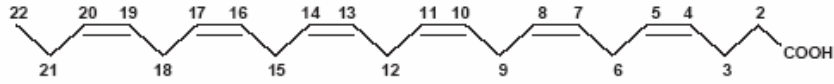
Literatürde ω -3 EPA uygulamasının beyindeki mekanizması ile ilgili birçok deneysel çalışma bulunmaktadır (220,221). Bu çalışmalarda EPA'nın nöroprotektif etkisi kanıtlanmıştır.

ROS'un merkezi sinir sisteminde membran patolojisine katıldığı bilinmektedir. (30). ω -3 EPA'nın nörodejeneratif hastalıklara etkisi yaygın bir şekilde araştırılmıştır. Balıkta bulunan ω -3 EPA'nın beyin korpus striatum (CS) bölgesini OS'ye karşı koruduğu gösterilmiştir (222). Çeşitli hipotezler fosfolipid metabolizmasının, membrana EPA katılımındaki eksiklik ve EPA yıkımındaki artışla ilişkili olabileceğini önermektedir. Bu görüş trombosit, eritrosit ve plazma gibi biyolojik materyaller yanında post mortem doku örnekleri ile de kanıtlanmıştır (223,224).

ω -6 yağ asitleri, kanamaları azaltıcı ve damar daraltıcı özelliğe sahiptir. ω -3 yağ asitleri ise yangı giderici, antitrombotik, antitromik, hipolipemik ve damar genişletici özelliğe sahiptir. Bu özellikleriyle omega yağ asitleri, kalp hastalıkları, 2. tip şeker hastalığı, çeşitli kanser (prostat, meme) vakaları, obezite ve iltihaplı eklem romatizması gibi hastalıkların önlenmesinde etkilidir.

2.4.2. Dokosaheksaenoik Asit

ω -3 yağ asitleri sınıfının büyük bir bölümünü ifade eden DHA, biyolojik sistemlerde ortak olarak bulunan en uzun zincirli doymamış yağ asididir (225).



Dokosaheksaenoik Asit (C₂₂H₃₂O₂, 22:6n-3, MA:328.448)

Şekil 2.14. DHA (A4,7,10,13,16,19-dokosaheksaenoik asit)'nin kimyasal yapısı (226)

Çeşitli enzimatik zincir reaksiyonları ile LNA'dan öncelikle EPA ve son olarak da DHA üretilir (Şekil 2.13). Fakat LNA'nın yalnızca %5'i söz konusu metabolik yolağa katılır. Ayrıca diyetSEL LNA alımını doku EPA düzeyini artırırken DHA düzeyini etkilemez (227). EPA kan komponentlerinde bulunur, ancak DHA ve eikozonoidlerin yapımı için hemen kullanıldığından dokularda birikmemektedir (228). Memeli türlerinde DHA yalnızca sinaptozomlar (229), sperm (230) ve retinal fotoreseptörlerin dış segmenti (231) gibi bazı seçilmiş dokularda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Yüksek DHA seviyelerinin sınırlı doku dağılımı DHA'nın bu dokularda henüz belirlenmemiş özel bir görevi olduğu anlamına gelmektedir. ω -3 yağ asitlerinden zengin (başlıca soğuk su balıklarının yağları) besin diyeti uygulaması yoluyla düşük DHA düzeyine sahip dokuların DHA içeriği 2-10 kat artırılabilmiştir (225). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ω -3 yağ asitlerinin bahsedilen etkilerine ek olarak nöral ve retinal dokularda da büyük önem taşıdığı saptanmıştır.

2.4.2.1. Dokosaheksaenoik Asit ve Sinir Sistemi

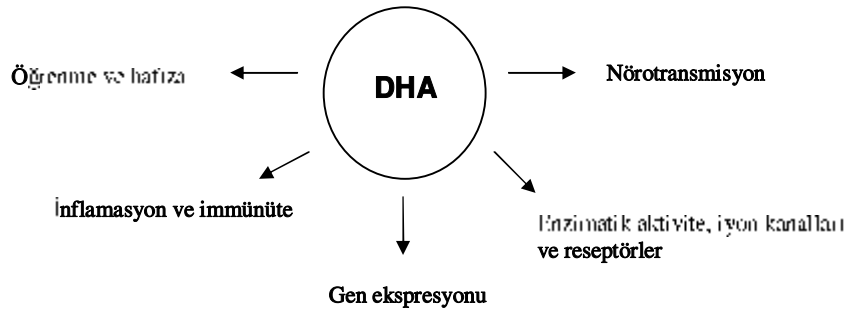
Beyindeki fosfolipid fraksiyonlarında genel kompozisyon çok az ω -6 içerir. AA önemli bir bileşen olmalda birlikte temel PUFA genellikle DHA'dır. DHA, serebral korteksin gri cevheri ve retina fotoreseptör hücre fosfolipidlerinin % 30-40'ını oluşturmaktadır (232,233). Ayrıca DHA, erişkin sıçanların total beyin yağ asitlerinin %17'sini, total retina yağ asitlerinin ise %33'ünü teşkil etmektedir (234). Beyin dokularının hücre altı bölümlerinin içinde ise en yüksek DHA seviyeleri sinaptozomal membranlar, sinaptik veziküller, mitokondri ve mikrozomlarda tespit edilmiştir (9,11).

Nöronlarda *de novo* DHA sentezi için gerekli olan enzimler olmadığından bu yağ asitleri ya direkt olarak diyetten almır ya da karaciğerde diyetSEL ω -3'den sentezlenir ve beyine taşınır. DHA'nın taşınmasına dair mekanizmalar henüz açık değilse de, serbestçe plazmadan beyine geçebildiği görüşü vardır (235). Ayrıca astrositlerin, 18-, 20-, 22-, ve 24-karbonlu n-3 prekürsörlerden az miktarda DHA sentezleme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (236). DHA kapiller endotelyum veya glial hücrelerden salındıktan sonra nöronlar tarafından ekstraselüler ortamdan almır (236).

DHA miktarının doğrudan önce ve beyin büyümesi esnasında artışı tespit edilmiştir. Bu dönemde beyin hızla artan nöral hücre plazma membranlarının biyosentezi için büyük miktarlarda DHA kullanmaktadır. Özellikle nörogeniz ve sinaptogenezden hemen önce beyinde yüksek miktarda DHA birikimi olmaktadır. DHA düzeyindeki artışın beyin boyutundaki artış ile oransal DHA birikimine bağlı olduğu gösterilmiştir (233).

DHA'nın başlıca plazma membranı (237) ve mitokondri (238) fosfolipidleri olmak üzere çeşitli hücre elemanlarına hızla katılabildiği gösterilmiştir. DHA, fosfolipid sınıfları arasında eşit bir şekilde dağılmamaktadır. Nöral membranlarda DHA, amino fosfolipid, fosfatidiletanolamin (PtdEtn), plazmeniletanolamin (PlsEtn) ve fosfatidilserin (PtdSer)'in sn-2 pozisyonunda çok miktarda, fosfatidilkolin (PtdCho)'in sn-2 pozisyonunda ise az miktarda bulunmaktadır.

2.4.2.2. Nöral Membranlara Dokosaheksaenoik Asit'in Etkisi



Şekil 2.15. Beyinde DHA'nın nörokimyasal olaylar üzerindeki etkisi (239)

Tütere membranlarının fosfolipid kompozisyonunun nörotransmitter reseptörleri, ikincil haberciler ve taşıyıcı proteinler ile ilişkili pek çok membran fonksiyonunu değiştirdiği bilinmektedir. Nöral membran kompozisyonundaki diyet aracılı değişiklikler 'kondüksiyon ve transmisyon' aracılığıyla nöronal fonksiyonu etkileyebilir. Kondüksiyon, sinir impulslarının hücre gövdesinden sinir terminaline akson boyunca iletimi; transmisyon ise elektriksel impulsun sinaps boyunca bir nörondan diğerine iletimidir (240). Ayrıca nöronal membranların akışkanlığı da nöronların sinyal iletim özelliklerini etkileyebilmektedir. ω -3 ve ω -6 PUFA'nın membranlara katılım oranının değişmesi membran akışkanlığını değiştirebilir. Bunun dışında diyetel PUFA, fazla bulunduğu zaman membran rijiditesine sebep olabilen membrana bağlı kolesterolü düşürülebilmektedir (241). DHA uygulaması nöral olmayan hücrelerde membran akışkanlığını ve yağ asidi unsaturasyon eğrisini desteklemektedir (242). Ancak antioksidan olmaksızın yüksek dozlarda uygulanan DHA, nöral olmayan hücrelerde LP'nin artmasına neden olabilir. Çünkü bu yağ asitleri 6 çift bağ anlamına gelen yüksek derecede unsaturasyona sahiptirler. Bu nedenle lipid peroksit ve aldehit ürünleriyle birlikte prooksidan özelliklerin ortaya çıkmasına neden olabilir (243). Bu durumu TBARS ve konjuge diene ürünündeki artış ile kanıtlanmıştır. Diyete E vitamininin eklenmesi ile bu problemin üstesinden gelinebilir.

a. ω -3 PUFA ile Nörotransmisyonun Modülasyonu: ω -3 PUFA, sıçanların nükleus akkumbens ve frontal korteksinde dopaminerjik transmisyonu etkilemektedir (244,245). Kronik ω -3 PUFA eksikliği hem DA metabolizmasını hem de nükleus akkumbens'de reseptör ve taşıyıcıları etkilemektedir. Bu durumda nükleus akkumbens'de DA'nın bazal düzeyi yükselirken DOPAC ve HVA gibi DA metabolitleri azalmaktadır. Ayrıca ω -3 PUFA eksikliği mezolimbik ve mezokortikolimbik sistemlerde de dopaminerjik transmisyonu değiştirmektedir (246,247). Diyetel DHA uygulaması frontal kortekste hem endojen DA miktarını hem de DA'nın D2 reseptörlerine bağlanmasını artırır (21). Bu durum kortikal MAO-B aktivitesinin baskılanması ile ilişkili olabilir.

DHA'nın sinapsta kolinerjik sinyal iletiminde yer aldığı bildirilmiştir (248). Diyetle alınan DHA membran fosfolipidlerine tutunur ve kolinerjik nöronal aktivasyon ile salınır. Serbestlenen DHA, yaşlılık ile "down-regüle" edilmiş kolinerjik sistemin sinyal iletiminde sinerjistik kolaylaştırma meydana getirir. Bu şekilde, vasküler-tip ve Alzheimer-tip bunamada nöronal sistemin iyileştirilmesinde önemli rol oynar (248). Ayrıca, DHA'nın NMDA-kaynaklı nörotoksikiteye karşı, ön beyindeki kolinerjik nöronların direncini artırdığı bilinmektedir.

b. ω -3 PUFA ile Enzimatik Aktivite, Reseptörler ve İyon Kanallarının Modülasyonu: Fonksiyonel nöral membranlar yapılarını, akışkanlık özelliklerini ve fonksiyonlarını sürdürebilmek için optimal düzeyde PUFA'ya ihtiyaç duyarlar. Dolayısıyla beyin dokusunda ω -3 yağ asitlerinin eksikliği membrana bağlı enzimlerin, iyon kanallarının ve reseptörlerin aktivitelerini belirgin derecede etkileyebilir (241). Bu enzimlerden biri $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaz'dır. Protein kinaz C, fosfolipaz A₂ (PLA₂), fosfolipaz C (PLC) gibi sinyal transdüksiyonu ile ilgili enzimler düşük Ca^{2+} iyonu konsantrasyonunda sitoplazmadan nöral membranlara

transloke olurlar ve hücre proliferasyonu ve farklılaşması gibi olaylar kaskadını başlatırlar. Ancak nöral membranların yağ asit kompozisyonunda ve sonuç olarak da membran akışkanlığında meydana gelen değişiklikler, enzimlerin nöral membranlara bağlanmasını ve dolayısıyla aktivitelerini etkileyebilir (249,241).

ω -3 PUFA eksikliği sırasında nöral membranların yağ asit kompozisyonundaki değişiklikler, nöral reseptörlerin agonistlerine, sitokinlere, NT'lere, hormonlara ve büyüme faktörlerine olan afinitelerinde değişikliğe sebep olabilir. Ancak henüz bu değişikliklerle ilgili çok az bilgi edinilmiştir (241).

DHA, iyon kanallarını ve nörotransmitter reseptörlerini modüle etmektedir. DHA, NMDA cevaplarını kolaylaştırarak (251) ve K^+ kanallarını bloke ederek (251) nöronların uyarılabilirliğini artırabilir. Diğer taraftan DHA, voltaj bağımlı Ca^{2+} akımını ve Na^+ kanallarını baskılayarak nöronal membranları stabilize edebilir (252). Ancak bu etkiler karmaşıktır ve moleküler mekanizmanın anlaşılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

c. ω -3 PUFA ile Gen Ekspresyonunun Modülasyonu: Gen ekspresyonunun genel olarak PUFA ile ya da özellikle DHA ile modülasyonu transkripsiyon seviyesinde meydana gelir ve buna pek çok transkripsiyon faktörü aracılık eder. DHA ve AA bu transkripsiyon faktörlerini aktive eder. DHA gen ekspresyonunu etkiler ve pek çok lipojenik enzimin mRNA stabilitesini değiştirir. DHA'nın etkisi diyetle bulunduğu sürece devam eder (239).

d. ω -3 PUFA ile İnflamasyon ve İmmünitinin Modülasyonu: İmmün hücrelerin membran fosfolipidleri yüksek miktarda PUFA içeriğine sahiptir. Sitokinler, büyüme faktörleri, endotoksinler veya ROS'dan gelen uyanılara cevaben PLA_2 'nin etkisiyle immün hücrelerin gliserofosfolipidlerinden AA salınır. AA, prostoglandinleri, lökotrienleri ve tromboksanları kapsayan eikozonoidlere metabolize olur (253). Eikozonoidler immün cevapların yoğunluğunu ve süresini düzenler. Prostoglandin E_2 (PGE_2), ateş, vasküler permeabilitenin ve vazodilatasyonun artması gibi pek çok proinflamatuvar cevabı oluşturur. Ayrıca PGE_2 , histamin gibi diğer ajanların neden olduğu ağrı ve ödemi artırır. Bu etkilerinin dışında PGF_2 , lenfosit çoğalmasını ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin aktivitelerini baskılar ve tümör nekrozis faktör ($TNF-\alpha$), interleükin-1 ($IL-1$), $IL-6$, $IL-2$ ve interferon (IFN)'ların üretimini inhibe eder. Bu açıdan PGF_2 immün baskılayıcı ve anti-inflamatuvar özelliktedir. Diğer bir AA metaboliti olan lökotrien B_4 (LTB_4) ise, damarların geçirgenliğini, kan akımını, ROS oluşumunu, lizozomal enzimlerin salınımını ve $TNF-\alpha$, $IL-1$, $IL-6$, $IL-2$, $IFN-\alpha$ üretimini artırırken, lenfosit çoğalmasını inhibe eder ve NK aktivitesini destekler. Bu AA'nın zıt etkilere sahip mediyatörlerin kaynağı olduğunu göstermektedir. Bu metabolitlerin fizyolojik etkileri, mediyatörlerin konsantrasyonlarına ek olarak üretim zamanlarına ve hedef hücrelerin duyarlılıklarına bağlıdır (254).

Diyetle alınan ω -3 PUFA hem hücre membranlarının fiziksel ve kimyasal özelliklerini etkiler hem de eikozonoid ve sitokinlerin üretimini düzenler. EPA ve DHA, AA'nın oksijenazasyonunu siklooksijenaz enzimi aracılığıyla inhibe etmek

için yararlıdır. Bu proinflamatuar eikozonoid ve sitokinlerin üretimini baskılayan bir reaksiyondur. Siklooksijenazların eikosapentaenoik asitlerle reaksiyonu seri-3 prostaglandinlerin, tromboksanların ve seri-5 lökotrienlerin oluşumuna neden olmaktadır. Bu metabolitler AA metabolizması ile üretilen uygun analogları arasında daha az aktif olma gibi farklı biyolojik özelliklere sahiptir (254,255,256).

DHA, sitokinler ve eikozonoidler arasındaki etkileşim oldukça kompleksdir. Ancak elde edilen bilgilere göre DHA, lenfosit çoğalmasını, proinflamatuar sitokinlerin oluşumunu ve NK hücrelerin aktivitesini azaltarak immün cevabı etkilemektedir.

e. ω -3 PUFA ile Öğrenme ve Hafızanın Modülasyonu: Sinaptik plastisitenin iki formu olan uzun dönem potansiyasyon (LTP) ve uzun dönem depresyon (LTD), öğrenme ve hafıza süreçleriyle ilişkili olan ana hücresel mekanizmalardır (257). Bu mekanizmalar post-sinaptik membranların depolarizasyonunu, NMDA reseptörleri aracılı Ca^{2+} girişini ve PLA_2 'nin stimülasyonunu kapsamaktadır. PLA_2 inhibitörleri hipokampüsün CA1 bölgesinde LTP ekspresyonunu baskılamaktadır.

Diyetsel DHA hem yaşa bağımlı AA kompozisyonundaki azalışı geri döndürmekte hem de nörotransmitter salınımını ve LTP ekspresyonundaki bozukluğu restore etmektedir (258). LTP'nin indüksiyonu için DHA gereklidir ve tetanik stimülasyon sırasında endojen olarak salınan DHA, LTP'nin tetiklenmesi için yeterli olmaktadır (259). Az miktarda ω -3 PUFA içeren diyetin sıçanlarda öğrenme yeteneğini etkilediği pek çok çalışma ile gösterilmiştir (260). Bu DHA'nın öğrenme ve hafıza için önerilen rolü ile uyum içindedir.

2.4.2.3. Nörolojik Hastalıklarda Dokosaheksaenoik Asit Seviyesi

Yaşlanma süreci boyunca nöral membranlarda serbest radikal oluşumuna bağlı olarak DHA seviyelerinde ciddi bir azalma meydana gelmektedir (261,233). Diyetel DHA yaşlı beyinlerde hem normal membran akışkanlığının sürdürülmesine yardımcı etmekte hem de normal beyin fonksiyonlarının yerine getirilmesinde önemli olan belirli genleri indüklemektedir (262).

DHA eksikliği ile karakterize pek çok nörolojik hastalık bulunmaktadır. Bu hastalıklar arasında AH (263), peroksizomal hastalıklar (264), depresyon (265), hiperaktivite (266), multiple skleroz (MS) (267) ve şizofreni (268) sayılabilmektedir.

Nörolojik Hastalıklarda DHA'nın Terapötik Önemi: DHA'nın sıçanlarda beyni iskemik ve eksitotoksik hasara karşı koruduğu bilinmektedir (269,270). Ayrıca DHA'nın beyin dokusunda antioksidan olarak etki edebileceği önerilmiştir (271,272). DHA'nın beyni, ROS kaynaklı LTP'ye karşı koruma rolünü açıklamak için yaşlı ve hiperkolesterolemik sıçanların beyinlerinin GSTT seviyeleri, GPx ve CAT aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuç olarak DHA'nın GSTT seviyesini ve GPx ile CAT enzimlerinin serebral aktivitesini artırarak antioksidan savunma mekanizmasını indüklediği gösterilmiştir (273).

Yüksek oranda balık tüketimi AIT'de meydana gelen kavrama azalış riskini düşürmektedir (274). Diyetel DHA, hipokampüste NT reseptörlerinin yoğunluğunu arttırmaktadır. DHA miktarının düştüğü MS hastalarında ise balık yağı ve vitamin uygulamasının klinik sonuç verdiği gösterilmiştir (267). DHA uygulamasının öğrencilerde strese bağlı agresifliği azaltması psikotropik etkisinin olabileceğine işaret etmektedir (275). Tüm bu hastalıklarda DHA uygulaması beyin dokusunu, nöral membranların devamlılığını sağlayarak ve anormal sinyal iletim süreçlerini düzelterek koruyabilir. Ancak tedavide DHA'dan zengin diyetin etkisinin ortaya çıkarılması için daha ayrıntılı çalışmalar yapılmalıdır. Zellweger sendromlu hastalara saf DHA diyeti uygulandığında görsel fonksiyonlarında gelişme gözlenmiştir (276).

2.4.2.3. Dokosaheksaenoik Asit ve Görsel Sistem

DHA, retinal fotoreseptörlerin dış segment disk membranlarının başlıca yapısal komponentlerinden biridir (277). DHA'nın biyokimyasal ve biyofiziksel özellikleri fotoreseptör membranların geçirgenliğini, akışkanlığını, kalınlığını ve lipid faz özelliklerini değiştirerek fonksiyonları üzerine etki edebilir (278). DHA'dan zengin membranlar hücre içi ve hücreler arası iletişim dinamiğini edileyen dış segment özelliklerini sağlamaktadır (279). Ayrıca, retinal hücrelerin gen ekspresyonlarını, farklılaşmalarını ve devamlılığını etkilemektedir. Retinanın membran fosfolipid DHA içeriğinde hafif bir düşme fotoreseptör plakların yenilenmesinde kritik bir etki oluşturmaktadır (280). Doku DHA düzeyi fototransdüksiyonun da içinde bulunduğu retinal hücre sinyal mekanizmalarını etkilemektedir. DHA, membrana bağlı retinal proteinlerin aktivasyonunu arttırmak için sinyal yollarını yönlendirebilir; ayrıca rhodopsin rejenerasyonuna katılabilir. DHA'nın stereo kimyasal yapısı rhodopsinin ışık emilimine cevaben yeterli miktarda konformasyonel değişikliğe uğramasına izin vermektedir. Doku DHA eksikliği görsel sistemin yapısal ve fonksiyonel anomalileri ile ilişkilidir (281,282). Brüt bir DHA eksikliği oluşturmak için sıçanları, gelişimleri sırasında ve yağamları boyunca ω -3 yağ asitlerinden mahrum bırakmak gerekmektedir. Bazı görsel sistem bozuldukları DHA uygulaması ile düzeltilebilmiştir. Yapılan bir çalışmada sıçanları ω -3 yağ asidinden zengin bir diyet uygulandığında retinal ve oksipital korteks DHA içeriklerinin normale döndüğü tespit edilmiştir. Bu değişiklikler insan ve insan dışı primatlarda yapılan elektroretinogram ve görsel duyarlılık testleri ile gösterilmiştir (283).

2.5. Hipotez:

PH'da VEP latenslerinin uzadığı, membran PUFA içeriğinin azaldığı, TBARS düzeyinin ise yükseldiği tespit edilmiştir.

DHA'nın antioksidan enzimler üzerine artırıcı etkisi dikkate alındığında, optimal bir diyetle membran PUFA içeriğinin belirli bir düzeyde tutulması, PH'da antioksidan enzim aktivitelerinin artmasına ve dolayısıyla LP'nin azalmasına neden olacaktır. Parkinson hastalığında VEP latenslerinin uzamasının mekanizması tam olarak bilinmediğinden aydınlatmak üzere planlanan bu çalışmamızda hipotezimiz; PH'da bozulan VEP latensleri üzerine DHA alımının düzeltici etkisi vardır ve bu etki LP ve antioksidan enzim aktiviteleri ile ilişkilidir.

GEREÇLER VE YÖNTEMLER

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji, Biyofizik Anabilim Dalı laboratuvarları, Merkez Laboratuvarı ve Deneysel Hayvanları Ünitesi'nde gerçekleştirilen bu çalışmada Marmara Araştırma Merkezi (M.A.M)'nden temin edilen ortalama 25-30g ağırlığında, 10 aylık, erkek C57BL/6 fareler kullanıldı.

3.1. Gruplandırma

Deneysel Hayvanları Ünitesi'nden birer hafta ara ile rasgele alınan toplam 40 adet fare her grupta 10 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı;

- 1) Kontrol Grubu (K)
- 2) DHA diyeti uygulanan grup (D)
- 3) Deneysel PH oluşturulan grup (P)
- 4) DHA diyeti uygulanan + Deneysel PH oluşturulan grup (PD)

3.2. Deneysel Protokolü

Deneysel süresi boyunca hayvanlar ortamı sıcaklığı $23 \pm 2^\circ\text{C}$ olan ve 12 saat aydınlık / karanlık döngüsü otomasyonuna sahip Deneysel Hayvanları Ünitesi Laboratuvarı'nda barındırıldı. Tüm gruplardaki hayvanlar normal ticari kemirgen yemi ve musluk suyu ile beslendi.

3.2.1. DHA Uygulanması

DHA (Docosahexaenoic Acid, Sigma-D 2534) D ve PD gruplarına, mısır yağında çözülerek, 36mg/kg/gün dozda, 30 gün boyunca, 22 numaralı beslenme sondasının kullanıldığı gavaj yoluyla uygulandı (284,285). DHA uygulanmayan K ve P gruplarına ise mısır yağının olası etkilerini elimine etmek amacıyla aynı miktarda mısır yağı aynı şartlarda gastrik gavaj yoluyla verildi.

3.2.2. Parkinson Hastalığının Oluşturulması

Gavaj uygulamasının 23. gününde MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine hydrochloride, Sigma-M 0896) toksini, P ve PD gruplarına, serum fizyolojik (SF)'te çözülerek (3mg/ml), 4x20mg/kg dozda, 12 saat aralıklarla, intraperitoneal yolla uygulandı (286,287).

3.3. Parametreler

3.3.1. Ağırlık Takibi

Deneysel süresi boyunca haftada 1 gün hayvanların ağırlık değişimleri takip edildi.

3.3.2. Görsel Uyarılma Potansiyelleri (VEP)'nin Kaydedilmesi

Hayvanlar gavaj uygulamasının 29. gününde VEP kaydına alındı. VEP kaydı için karanlık bir ortam oluşturulduktan sonra hayvanlara, intraperitoneal yolla 80mg/kg dozda ketamin (%10'luk Alfamine, Alfasan International B.V) ve 16mg/kg dozda ksilazin (%2'lik Alfazyne, Alfasan International B.V) karışımı verilerek anestezi uygulandı (288). Bu anestezi uygulaması yaklaşık 30-40 dakika kayıt süresi sağlanmaktadır. Ek anestezi gerektiği zamanlarda ilk dozun %20'si kullanıldı. Normal vücut sıcaklığı (37,5-38°C)'nin korunabilmesi için anestezi almındaki hayvanlar VEP düzeneği içerisinde bir ısıtıcı battaniye üzerine yerleştirildi ve bir dijital termometre ile vücut sıcaklıkları devamlı surede ölçüldü (289). Kayıt için 7mm uzunluğunda platin metal alaşımı (NF-223S, Nihon Kohden) iğne elektrotları kullanıldı. Aktif elektrot olarak adlandırılan pozitif elektrot, hayvanın ense tepesine, orta hatta; referans elektrot olarak adlandırılan negatif elektrot ise interorbital çizginin hemen yanında, orta hatta deri altına yerleştirildi (289). Toprak elektrodu ise hayvanın kuyruk köküne pasta yardımı ile yapıştırıldı. Flaş uyarısı, Nova strobe AB stroskobu ile farelerin pupillalarının tümü aydınlatılacak şekilde 10cm mesafeden uygulandı. Flaş uyarısı saniyede bir kere ve en düşük şiddette (0.1 J) olacak şekilde ayarlandı. Kayıtlar Biopac MP100 Data Acquisition cihazında alındı.

Flaşla oluşturulan görsel uyarılma potansiyelleri sağ ve sol göz olmak üzere monooküler uyarılarla kaydedildi. Deney süresince flaş verilmeyen diğer göz karbon kağıdıla sarılmış pamuk yardımıyla kapatıldı. Çalışmalarda kullanılan cihazın amplifikatörünün frekans limitleri 1-100Hz, kazanç 50.000, analiz zamanı 300ms olarak ayarlandı. FVEP'ler 200 kez ortalamaya alınarak kayıtlandı. FVEP'lerin tekrarlanabilirliğini sağlamak amacı ile her kayıt en az iki defa yapıldı. İzoelektrik çizginin üzerindeki potansiyel tepeleri (pikleri) negatif (N), altındaki ise pozitif (P) kabul edildi. Tepe latensleri stimulus aralığından itibaren milisaniye (ms) birimiyle, birbirini izleyen ters polaritedeki dalgaların genlikleri ise tepeden-tepeye mikrovolt (μV) birimiyle hesaplandı.

3.3.3. Motor Aktivite Tayini

Parkinson modeli oluşturulduktan 7 gün sonra, motor aktiviteyi belirlemek için PII'nın spesifik semptomlarından bradikinezi değerlendirildi. Bradikinezinin derecesini ölçmek için küçük modifikasyonlara uğratılmış (290) olan Ogawa ve arkadaşlarının (291) 'Pole Test = Çubuk Testi' metodu kullanıldı.

Kelime anlamı istemli hareketlerde yavaşlama olan bradikinezi, genellikle hareketin başlatılmasında gecikme şeklinde tanımlanmaktadır. Bu gecikme süresinin uzaması bradikinezi şiddetinin arttığını gösterir.

Test için yaklaşık olarak 0,8 cm çapında ve 50 cm uzunluğunda metal çubuk, sarı bezi ile sarılarak hayvanın daha iyi tutunabilmesi için uygun hale getirildi. Fare çubuğun en üst noktasına başı yukarıya bakacak şekilde bırakıldı ve bu konumda iken tamamen geriye dönüp zemine doğru hareket etme anına kadar geçen süre kaydedildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Motor aktivite tayin yöntemi

3.3.4. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Çıkarılması

Deney süresinin 30. günü, motor aktivite tayinini takiben aşağıda belirtilen işlemler uygulandı;

Tıyvanlar 80mg/kg dozda ketamin ve 16mg/kg dozda ksilazin karışımının intraperitoneal uygulanması ile anestezide alındıktan sonra orta hat kesisi yapılarak abdomeni ve göğüs kafesi açıldı. Aortanın iliak bölgesine yerleştirilen bir kateter (24 numaralı)'den heparinli SF verildi ve böylece dokuların perfüzyonu sağlandı. Bu esnada sağ atrium kesilerek heparinli SF'in boşalması sağlandı. TBARS ve antioksidan enzim aktivite tayini için beyin ve göz dokuları hasarsız ve hızlı bir şekilde çıkarılarak deneye son verildi. Histolojik analizler için ayrılan beyinlerden doku izolasyonu hemen gerçekleştirilirken diğer dokular biyokimyasal ölçümler yapılarak -80 °C'de saklandı.

3.3.5. Histolojik Analizler

İmmünohistokimya için ayrılan beyinlerden buz üzerinde izole edilen fare SN dokuları derhal % 10'luk formaline (Formalin, ADR-Advanced Diagnostic Research-12010742500) alındı ve formalin içinde bir gece fikse edildi. Daha sonra akan suda 3 saat boyunca yıkandı ve %70, %80, %90 ve %100'lük artan alkol serilerinden geçirek dehidratasyon sağlandı. Ksilol (Xylol, Merck-K33776585 441) ile şeffaflaşırma işlemi uygulandıktan sonra dokular parafine gömüldü. Parafin bloklardan kesit aleti (Leica RM2125RT) ile alınan 5 mikron kalınlığında kesitler Poly-L-Lizin kaplı lamlara (Polysine; Menzel GmbH&Co KG, Brounschweig,

Germany) alındıktan sonra, hematoksilen-eozin ve immünohistokimyasal boyama teknikleri uygulandı.

3.3.5.1. Hematoksilen-Eozin Boyama

Hematoksilen-eozin boyama için ayrılan kesitler öncelikle 60°C'lik etüvde 20 dakika bekletildi. Daha sonra kesitler sırasıyla onar dakika ksilollerde, beşer dakika azalan alkol serilerinde, son olarak da iki dakika çeşme suyunda bekletildi. Bu yıkama işlemini takiben kesitler önce hematoksilene (Hematoxylin, Bio Optica-06002L), sonra çeşme suyundan geçirilerek eozine daldırıldı. Eozinden çıkarılan kesitler hızlıca artan alkol serilerinden geçirildi, 15'er dakika ksilollerde bekletildi. Son olarak kesitlerin üzeri kapama solüsyonu (Kaiser's Glyseringelatine, Merck-KGaA) ile kapatıldı.

3.3.5.2. İmmünohistokimyasal Protokol

Poly-L-Lizin kaplı lamalara alınan immünohistokimyasal protokol için ayrılmış parafin kesitler bir gece 56°C'lik etüvde bekletildi. Kesitler, deparafinizasyon için iki kere onar dakika ksilollerde bekletildi ve her birinde beşer dakika olmak kaydıyla azalan alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edildi. Daha sonra, distile suda çalkalanan kesitler fosfat tuzu tamponunda (PBS, pH: 7.2 -7.4) üç kere beşer dakika yıkandı. Kesitler, antijenik maskenin giderilmesi için 200ml sitrat tamponuna ((1M, pH: 6.0) (Sitrlic Acid, Merck-K91217044 122)) konularak mikrodalga fırında iki kere beşer dakika muamele edildi ve lıttın dışında yirmi dakika soğumaya bırakıldı. Kesitler PBS'te yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitenin giderilmesi için % 3'lük H₂O₂ (%35'lik Hydrogene Peroxide, Merck-K33052400 421) ile yarım saat oda ısısında inkübe edildi. PBS ile tekrar yıkama yapıldıktan sonra kesitlerin çevresi hidrofobik kalemle (Pap Pen-Beckman Coulter, Immunoteck-IM3580) çizildi. Bu işlemi takiben lamalar oda sıcaklığında ve nemli ortamda özgül olmayan immünooglobulin bağlanmalarını önlemek amacıyla bloklama serumu (TP-060-HI., NeoMarker, Fremont, CA, USA) ile yedi dakika muamele edildi, sonrasında serumun fazlası alınarak kesitler, fare monoklonal anti-Tirozin Hidroksilaz (#657010; 1/500; Calbiochem, Merck KGaA., Darmstadt, Germany) antikoruyla iki saat süreyle oda ısısında nemli ortamda inkübe edildi. Negatif kontrol kesitlerine primer antikor yerine normal fare immünooglobulinleri uygulandı. Lamalar inkübasyon sonunda PBS ile yıkandı. Bundan sonra sırası ile yirmi dakikalık biyotinli sekonder antikor (K0675; LSAB2 System-HRP; DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA) ve streptavidin-peroksidaz kompleksi (K0675; LSAB2 System-HRP; DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA) ile inkübasyon ve her iki inkübasyon arasında ve son inkübasyonu takiben, tekrar PBS ile yıkama uygulandı. Ardından sinyali geliştirmek için dokular 3' Diamino benzidin (DAB) kromojeni (K3466, Dako, Glostrup, Denmark) ile muamele edildi ve musluk suyunda yıkandı. Hematoksilende onbeş saniye zat boyama yapıldıktan sonra kesitler tekrar artan alkol serilerinde dehidrate edilip ksilole alındı ve ardından entellan kapama solüsyonu ile kapatıldı.

Bütün gruplar aynı gün aynı muamelelerden geçirilerek boyandı ve böylece teknik nedenlerden doğabilecek etkiler ortadan kaldırıldı. Boyanmış kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi ve sonrasında fotoğraflandırıldı.

3.3.5.3. Genel Görünüm ve İmmünoreaktivitenin Değerlendirilmesi

Tüm gruplarda SN dokusunun genel görünümünün değerlendirilmesinde Tetraoksilen-Tirozin boyanmış kesitler kullanıldı.

Anti-Tirozin Hidroksilaz ile immünohistokimyasal boyanma yapılan parafin kesitlerde iki araştırmacı tarafından farklı zamanlarda Tirozin Hidroksilaz-İmmünoreaktif dopaminerjik nöronlar sayıldı. Ayrıca, immünoreaktivite şiddeti (-): Reaksiyon Yok, (1): Zayıf, (11): Orta Şiddetli, (+++): Kuvvetli boyanma şeklinde yine iki araştırmacı tarafından değerlendirildi.

3.3.6. Biyokimyasal Parametreler

3.3.6.1. Dokuların Homojenizasyonu

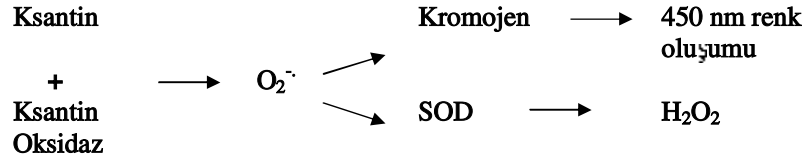
Tayyanlardan alınan her iki gözün lensleri buz üzerinde uzaklaştırıldıktan sonra bir bistüri yardımıyla retinaları kazınarak çıkarıldı. Elde edilen retinalar ve herhangi bir işleme tabi tutulmayan beyinler 0,5 mM EDTA (Ethylenediamine teraacetic acid, Sigma-ED2P) içeren 50mM'lık K_2HPO_4 (di-Potassium hydrogen phosphate, Merck-226) fosfat tamponunda (pH: 7.2) sonikasyon işleminden geçirildi. Bu işlemde retinalar için 0,5 ml, beyinler için ise 1,5 ml fosfat tamponu kullanıldı. Sonikasyon sırasında dokuların ısınmaması için kar içine yerleştirilmiş homojenizasyon tüpü kullanıldı. İşlem, Bronson Sonifier-250 marka sonikatörde, beyinler için 30sn, retinalar için 15sn süresince uygulandı.

Elde edilen homojenat 3 ayrı ependorf tüpüne alınarak 3 ayrı santrifüj (Beckman Optima TL100) işlemine tabi tutuldu. TBARS ölçümü yapılacak olan tüp $+4^{\circ}C$ 'de 15.000 g'de 10 dakika, CAT ve GPx enzim aktivite ölçümü yapılacak olan tüp $+4^{\circ}C$ 'de 10.000 g'de 15 dakika ve SOD enzim aktivite ölçümü yapılacak olan tüp ise $+4^{\circ}C$ 'de 1.500 g'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Hem beyin hem de retina dokusundan elde edilen süpernatantlar TBARS ve her bir antioksidan enzim için ayrı ependorflara alındıktan sonra biyokimyasal parametreler çalışılacağı kadar $-80^{\circ}C$ 'de saklandı.

3.3.6.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini

Beyin ve retina dokularında SOD enzim aktivite tayini, ticari bir kit (Superoxide Dismutase Enzyme Assay Kit, Cayman-706002) ile yapıldı (292).

Prensip: Tayin kompetitif inhibisyon yöntemine dayanmaktadır. Bu yöntemde reaksiyon ortamında sürekli olarak $O_2^{\cdot-}$ oluşturan ksantin oksidaz-hipoksantin sistemi mevcuttur. Bu sistemin açığa çıkardığı $O_2^{\cdot-}$ reaksiyon ortamına ilave edilen kromojeni indirger ve 450nm'de ölçülebilen renk oluşumuna neden olur. Dokularda ne kadar SOD enzimi varsa, renk oluşumu o kadar az olacaktır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. SOD enzim aktivite tayin yöntemi

Reaktifler:

1. 10X Ölçüm Tampon
2. 10X Örnek Tamponu
3. Radikal Dedektör
4. SOD Standardı
5. Ksantin Oksidaz

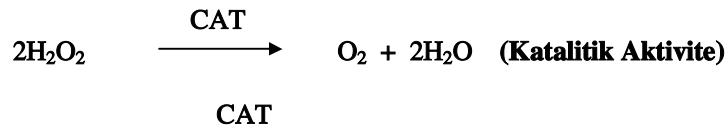
İşlemler: 3 ml ölçüm tamponu 27 ml distile su ile sulandırılarak 1X ölçüm tamponu, 2 ml örnek tamponu ise 18 ml distile su ile sulandırılarak 1X örnek tamponu hazırlandı. Folyo kağıdı ile kaplanmış bir tüp içerisinde 50µl radikal detektör, 19,95 ml dilüe ölçüm tamponu ile sulandırıldı. SOD stok solüsyonu hazırlamak için 1,98 ml örnek tamponuna 20 µl SOD standardı eklendi. Hazırlanan SOD stok solüsyonundan örnek tamponu ile değişen konsantrasyonlarda 1'den 7'ye SOD standartları hazırlandı. 50 µl ksantin oksidaz solüsyonu, 1.95 ml dilüe örnek tamponu ile sulandırıldı. Her standart ve her numune çift çalışıldı. 96 kuyucuklu plate kuyucuklarına öncelikle 200 µl dilüe radikal detektör sonra standart için 10'ar µl SOD standartlarından, örnekler için ise 10'ar µl supernatantlardan ilave edildi. Hazırlanmış olan dilüe ksantin oksidaz solüsyonundan her bir kuyucuğa 20'şer µl eklenerek reaksiyon başlatıldı. Plate birkaç saniye yavaşça sallandıktan sonra kapağı kapanılarak bir karıştırıcı üzerinde oda ısısında 20 dakikalık inkübasyona bırakıldı. Absorbanslar 450 nm'de bir plate okuyucu ile okundu.

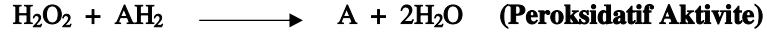
SOD enzim aktivitesinin hesaplanması: Dokulardaki SOD enzim aktivitesi oluşturulan SOD standart eğrisiyle hesaplandı. Bir ünite SOD aktivitesi, maksimum renk oluşumunu %50 inhibe eden SOD miktarı olarak kabul edildi.

3.3.6.3. Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Tayini

Beyin ve retina dokularında CAT enzim aktivite tayini, ticari bir kit (Catalase Enzyme Assay Kit, Cayman-707002) ile yapıldı (293).

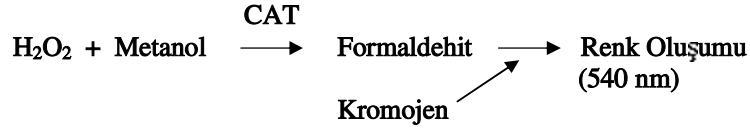
Premsip: CAT enziminin hem katalitik hem de peroksidatif aktivitesi mevcuttur. Katalitik aktivite H₂O₂'yi moleküler oksijene ve suya çevirir. Peroksidatif aktivite ise düşük moleküler ağırlıklı alkollerini okside ederek suyu oluşturur (Şekil 3.3).





Şekil 3.3. CAT enziminin enzimatik aktivitesi

H₂O₂'yi parçalayan enzim yalnızca CAT değildir, ancak alifatik alkollerini substrat olarak kullanan tek enzim CAT'tır. Bu sebeple CAT enzim aktivite düzeyleri tayin edilirken enzimin peroksidatif aktivitesine bakıldı. Ortama alkol olarak metanol konuldu ve oluşan formaldehit Purpald denilen bir kromojen ile reaksiyona sokularak renk oluşumu tayin edildi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. CAT enzim aktivite tayin yöntemi

Reaktifler:

1. 10X Ölçüm Tamponu
2. 10X Örnek Tamponu
3. Formaldehit Standardı
4. Kontrol Katalaz
5. KOH
6. Metanol
7. H₂O₂
8. Purpald (kromojen)
9. Potasyum Periyodat

İşlemler: 2 ml ölçüm tamponu 18 ml distile su ile sulandırılarak 1X ölçüm tamponu, 5 ml örnek tamponu ise 45 ml distile su ile sulandırılarak 1X örnek tamponu hazırlandı. Liyofilize kontrol CAT, 2 ml örnek tamponunda çözüldü ve vortekslendi. Bu stok enzim solüsyonundan 100 µl alındı ve 1.9 ml dilüe örnek tamponu ile sulandırıldı. KOH içerisine 4 ml soğuk distile su eklendi ve vortekslendi. 40 µl H₂O₂, 9.96 ml distile su ile sulandırıldı. Formaldehit standartlarını hazırlamak için 10 µl formaldehit standart solüsyonu 9.99 ml örnek tamponu ile sulandırıldı. Hazırlanan CAT stok solüsyonundan örnek tamponu ile değişen konsantrasyonlarda 1'den 7'ye CAT standartları hazırlandı. Her standart ve her numune çift çalışıldı. 96 kuyucuklu plate kuyucuklarına öncelikle 100 µl dilüe ölçüm tamponu ve 30 µl metanol koyuldu. Daha sonra standart kuyucuklarına 20'şer µl hazırlanan standartlardan, pozitif kontrol kuyucuklarına 20'şer µl dilüe kontrol katalazdan ve numune kuyucuklarına da 20'şer µl süpernatantlardan eklendi. Tüm kuyucuklara 20 µl dilüe H₂O₂ eklendi ve böylece reaksiyon başlatıldı. Plate birkaç saniye yavaşça sallandıktan sonra kapağı kapatılarak bir karıştırıcı üzerinde, oda ısısında, 20 dakikalık inkübasyona bırakıldı. Daha sonra reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa 30 µl KOH eklendi. Sonra her kuyucuğa 30 µl purpald eklendi ve plate kapağı kapatılarak oda ısısında, 10 dakikalık inkübasyona bırakıldı. Her kuyucuğa 10 µl potasyum periyodat eklendikten sonra

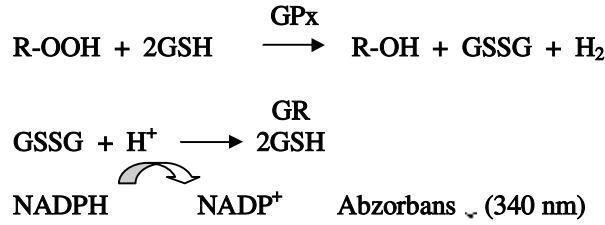
plate kapağı kapatılarak oda ısısında, 5 dakikalık inkübasyona bırakıldı. Absorbanslar 540 nm’de bir plate okuyucu ile okundu.

CAT Enzim Aktivitesinin Hesaplanması: Dokulardaki CAT enzim aktivitesi oluşturulan standart eğri ile hesaplandı. Bir ünite CAT aktivitesi, 1 dakikada oluşan μmol formaldehit olarak kabul edildi.

3.3.6.4. Glutatyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivite Tayini

Beyin ve retina dokularında GPx enzim aktivite tayini, ticari bir kit (Glutathione Peroxidase Cellular Activity Assay Kit, Sigma CGP-1) ile yapıldı (294).

Prensip: GPx enzimi, H_2O_2 dahil tüm hidroperoksitlerin redüksiyonunu sağlar. Bu işlev sırasında da GSII’yi kullanır. Oluşan GSSG, GR ile tekrar indirgenir. Bu indirgenme sırasında NADPH kullanılır ve NADP^+ oluşur. NADPH’nin reaksiyon ortamından kaybı 340 nm’de absorbans azalmasına neden olur. Bu azalmadan GPx enzim aktivitesi tayin edilmektedir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. GPx enzim aktivite tayin yöntemi

Reaktifler:

1. Glutatyon Peroksidaz Ölçüm Tamponu
2. NADPH Ölçüm Tamponu
3. Tert-bütül hidroperoksit
4. Glutatyon Peroksidaz standardı (Oxis, 27617)

İşlemler: GPx ölçüm tamponu oda ısısına alındı. 1 şişe NADPH ölçüm reaktifi 1,25 ml distile su ile çözüldü. 21,5 μl tert-bütül hidroperoksit 4,795 ml distile su ile sulandırılarak 30mM’lık tert-bütül hidroperoksit solüsyonu hazırlandı. Glutatyon Peroksidaz standardı 1ml GPx ölçüm tamponunda sulandırıldı. 1 ml’lik kuartz küvet içerisine sırasıyla 900 μl GPx ölçüm tamponu, 50 μl NADPH reaktifi, 40 μl GPx standart solüsyonu ve son olarak da 10 μl tert-bütül hidroperoksit koyuldu ve sıcaklığı 25 °C’ye ayarlanmış olan spektrofotometrede, 340 nm’de absorbans azalığı okundu. Numune ölçümü için ise GPx standart solüsyonu yerine aynı miktarda süpernatlar koyuldu.

GPx Enzim Aktivitesinin Hesaplanması: Dokulardaki GPx enzim aktivitesi, NADPH'nin 340 nm'deki extinction coefficient ($0.00622 \mu\text{M}^{-1}$) değerinden hesaplandı. Bir ünite GPx aktivitesi, 1 dakikada kullanılan μmol NADPH olarak kabul edildi. Deneyin standardizasyonu için bir GPx standardı (Glutathione Peroxidase Standard, Oxis-27617) kullanıldı.

3.3.6.5. Doku Tiyobarbitürik Asit Reaktif Ürünleri (TBARS)'nin Tayini

Beyin ve retina dokularında TBARS tayini, Wasowicz ve arkadaşlarının yöntemine göre yapıldı (295).

Prensip: Bir I.P ürünü olan MDA'nın 1 molünün 2 mol 2-tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan bileşiğin, asidik ortamda n-butanol fazına ekstrakte edilerek, 525nm eksitasyon ve 547nm emisyon dalga boylarında spektrofotometrik olarak okunması esasına dayanmaktadır.

Reaktifler:

1. 29 mmol/L Tiyobarbitürik asit (TBA, Sigma-T 5500): 0.418g TBA, 50 ml distile su ve 50 ml glasiyel asetik asit (Acetic acid glacial extra pure, Merck-56) içinde çözüldü.
2. 5 mol/L HCl (Hydrochloric acid, Merck-314)
3. n-butanol (n-Butanol, Merck-329)
4. Standart Solüsyonu: Tetraetoksipropan (1,1,3,3-tetraethoksiopropane, Sigma-T9889) stok solüsyonundan distile su ile sulandırılarak hazırlandı.

İşlemler: Bir ml distile su içeren tüpe 50 μl doku süpematantı konulduktan sonra 1 ml tiyobarbitürik asit (TBA, 29 mmol/L) eklendi. Tüp iyice karıştırıldıktan sonra, 1 saat süreyle 95-100°C arasında kaynatıldı. Numuneler soğutulduktan sonra, 25 μl HCl (5mol/L) ve 2 ml n-butanol eklenerek vortekslendi. Bu işlemden sonra 3000 g'de 10 dakika santrifüj edildi ve butanol fazı ayrıldı. Butanol ekstraktunun floresansı, 525 nm eksitasyon ve 547 nm emisyon dalga boylarında spektrofotometre (Perkin Elmer Luminescence spectrometer, LS50B)'de okundu.

TBARS Miktarının Hesaplanması: 1,1,3,3-tetraetoksipropan standardı aynen numune gibi çalışılarak standart grafiği oluşturuldu. Dokuların TBARS miktarı bu grafik yardımıyla hesaplandıktan sonra nmol/g protein olarak ifade edildi.

3.3.6.6. Protein Tayini

Beyin ve retina dokularında protein tayini modifiye Bradford yöntemine dayanan bir kit ile yapıldı (296).

Reaktifler:

1. Standart solüsyon: 2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ bovin serum albümin (Albumin Bovine, Sigma, A-8022)
2. CPPA Reaktifi (Coomassie Plus Protein Assay Reagent, Pierce-1856210)

İşlemler: 1µl doku süpernatantı 999µl distile su ile sulandırıldıktan (1:1000) sonra üzerine 1 ml CPPA reaktifi eklendi ve 595 nm’de absorbanı spektrofotometrik olarak okundu. Standart çalışması ise numune yerine artan konsantrasyonlarda 1:1000 sulandırmaya sahip BSA kullanılarak yapıldı.

Protein Miktarının Hesaplanması: Dokulardaki protein miktarları standart grafiği kullanılarak hesaplandı.

3.4. Sonuçların Değerlendirilmesi

İstatistiksel değerlendirme SPSS paket programı (versiyon 13) kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak gösterildi, anlamlılık düzeyi $\alpha = 0.05$ olarak belirlendi. Her değişken için normallik testi uygulandı, normal dağılıma uyan veriler için parametrik olan ‘Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA)’ ve takiben ‘Tukey Post Hoc Testi’, uymayanlar için ise nonparametrik olan ‘Kruskal Wallis Varyans Analiz’ ve takiben ‘Mann-Whitney U Testi’ kullanıldı.

BULGULAR

4.1. Genel Görünüm

Deneye alınan hayvanlarda genel görünüm ve sağlık açısından herhangi bir farklılık izlenmemiştir.

4.2. Ağırlık Değişimi

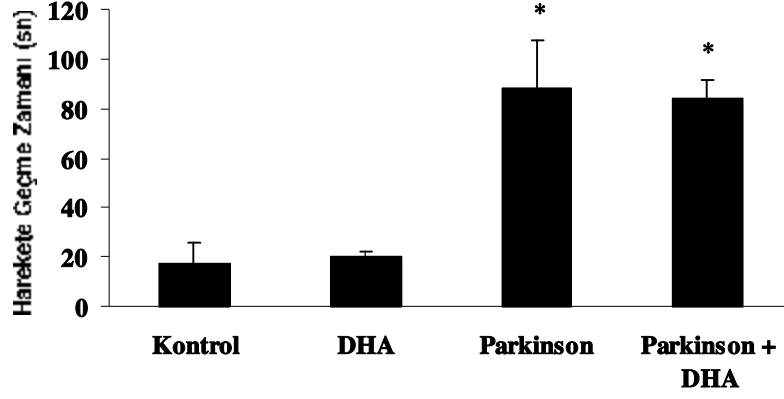
Deney gruplarının haftalara göre ağırlık değişimi **Çizelge 4.1**'de verilmiştir. Deney süresi boyunca tüm deney gruplarındaki hayvanların haftalık vücut ağırlıkları takip edilmiş, grup içinde ve gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır. Uygulanan DHA diyeti ya da oluşturulan Parkinson modeli hayvan ağırlıkları üzerine etkili olmamıştır.

Çizelge 4.1. Haftalara göre ağırlık değişimi

GRUPLAR	I. Hafta (g)	II. Hafta (g)	III. Hafta (g)	IV. Hafta (g)
Kontrol (K)	26,1±1,6	26,7±1,09	26,7±1,02	26,5±0,92
DHA (D)	28,60±0,41	28,46±0,46	28,18±0,62	27,82±0,76
Parkinson (P)	27,44±0,8	27,33±0,8	27,11±0,72	27,56±0,85
Parkinson+DHA (PD)	29,71±1,44	28,57±1,57	29,14±1,44	29,43±1,49

4.3. Motor Aktivite Tayini

Motor aktivite tayini için çubuk testi ile değerlendirilen harekete geçme zamanının (bradikinezi şiddeti) P grubunda, K ve D gruplarına göre istatistiksel olarak önemli derecede uzadığı tespit edilmiştir. PD grubu ile P grubu arasında ise bir fark gözlemlenmiştir (**Şekil 4.1**). Sonuç olarak Parkinson hastalığının motor aktiviteyi bozduğu, DHA'nın ise hastalık durumunda motor aktiviteyi düzeltici etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

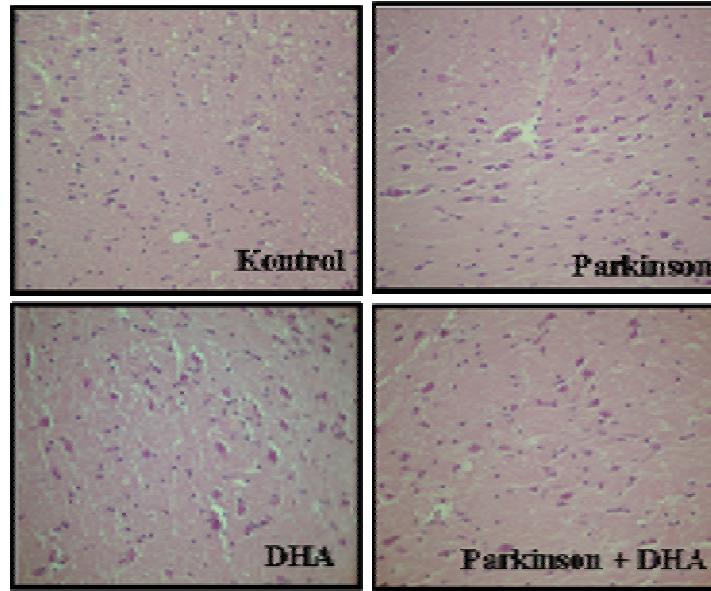


Şekil 4.1. Çubuk testi ile bradikinezi şiddetinin değerlendirilmesi. *: $p < 0,05$ düzeyinde K ve D gruplarından fark

4.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirmeler

4.4.1. Genel Görünüm

Tüm gruplarda SN genel görünimleri Hematoksilen-Eozin ile boyanan kesitlerde değerlendirilmiştir. Dopaminerjik nöronlar ve glia hücrelerinde normal ve düzgün sınırlar izlenmiştir. Nöronlar arasında yer alan uzantıların organizasyonu ele alındığında P grubunda uzantı organizasyonunun K, D ve PD gruplarına göre daha dağınık ve gevşek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Hematoksilen-Eozin boyama

4.4.2. Tirozin Hidroksilaz Ekspresyonu

TH'nin tüm gruplarda dopaminerjik nöronların gövdelerinde ve uzantılarında immünopozitif olduğu gözlenmiştir.

Glia hücrelerinde TH için herhangi bir immünoreaksiyon görülmemiştir.

Tüm gruplarda TH immünopozitif hücreler sayılmıştır (**Çizelge 4.2**);

Bu sayılara göre P grubunda hem K hem de D grubuna göre SN dopaminerjik nöron sayısının önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. PD grubuna ait hayvanların dopaminerjik nöron sayılarındaki azalışın P grubuna göre önemli derecede hafiflediği, buna rağmen K grubundaki dopaminerjik nöron sayısından farklı olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte PD grubundaki hayvanların dopaminerjik nöron sayılarının D grubuna yakın olduğu belirlenmiştir (**Çizelge 4.2**).

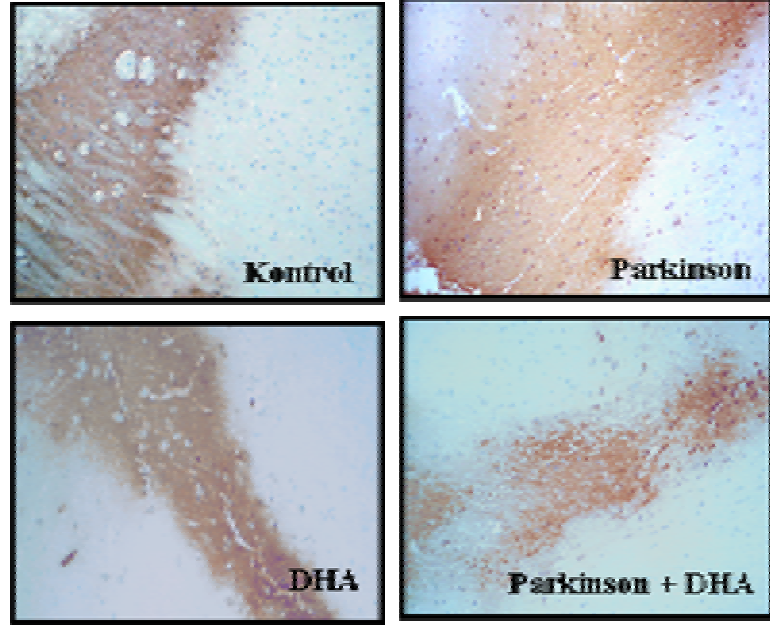
TH immünoreaksiyon şiddetleri değerlendirildiğinde, P ve PD gruplarında K ve D gruplarına göre daha az olduğu izlenmiş ancak bu boyanma şiddetindeki düşüşün istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.2. TH-pozitif dopaminerjik nöron sayısı ve boyanma şiddeti. Aksiyel kesitlerde SN'deki TH-pozitif nöronlar ışık mikroskopunda x200 büyütülmüş ve sayılmıştır.

- (-): Reaksiyon Yok,
(+): Zayıf boyanma şiddeti,
(++): Orta şiddette boyanma,
(+++): Kuvvetli boyanma şiddeti
* : p<0.05 düzeyinde K grubundan fark
: p<0,05 düzeyinde P grubundan fark

	Kontrol (K)	DHA (D)	Parkinson (P)	Parkinson+DHA (PD)
TH İmmünoreaksiyon Boyanma Yoğunluğu	+++	+++	++	++
TH İmmünopozitif Hücre Sayısı/alan	440 ± 5	210 ± 8 *	154 ± 10 *	244 ± 2 #

TH ile boyanmış kesitler dopaminerjik nöron uzantılarının organizasyonu açısından değerlendirildiğinde, P grubunda diğer tüm gruplara göre belirgin biçimde uzantı oryantasyonunun bozulduğu ve uzantı sayılarının azalarak daha seyrek ve gevşek seyrettiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.3). D ve PD gruplarında uzantı morfolojisi ve sayısının K grubuna kıyasla daha düzensiz ve az olmasına rağmen, P grubuna göre daha düzenli ve normal sayıda olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Deney gruplarında TH için gözlenen immünreaktivite. Aksiyel kesitlerde SN'deki TH-pozitif nöronlar ışık mikroskopunda x200 büyütmede 2 araştırmacı tarafından sayılmıştır.

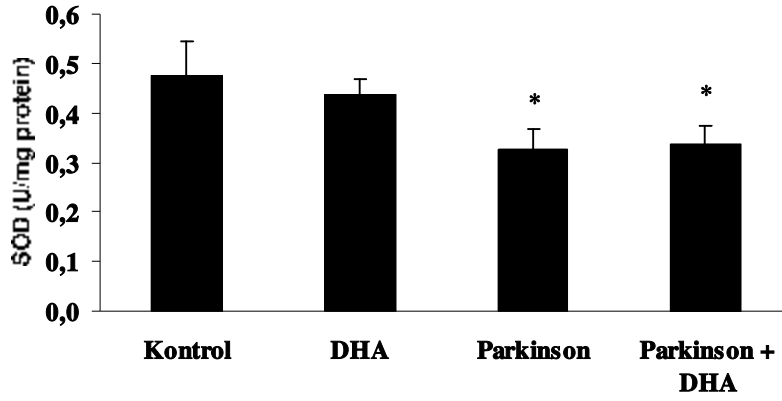
4.6. Biyokimyasal Parametreler

Kontrol deney gruplarına ait hayvanların beyin ve retina dokularında SOD, CAT ve Gpx antioksidan enzim aktivite değişiklikleri ve TBARS düzeylerine ilişkin grafikler sırasıyla aşağıda verilmiştir.

4.6.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Sonuçları

4.6.1.1. Beyin Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Sonuçları

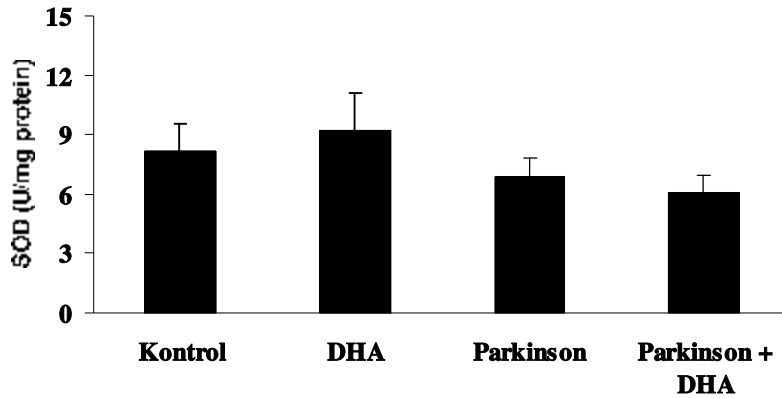
Beyin SOD enzim aktivite değerleri Şekil 4.4'te gösterilmiştir. P ve PD gruplarında beyin SOD enzim aktivite düzeylerinin K grubuna göre önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. PD ile P grubu arasında bir fark gözlenmemiştir. Deneysel Parkinsonun azalttığı beyin SOD enzim aktivitelerine DHA'nın düzeltici etkisi olmamıştır ve hastalık durumu dışında beyin SOD enzim aktivitesi üzerine etki göstermemiştir.



Şekil 4.4. Beyin SOD aktivite değerleri *: $p < 0,05$ düzeyinde K grubundan fark

4.6.2.2. Retina Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Sonuçları

Retina SOD enzim aktivite değerleri Şekil 4.5'de gösterilmiştir. P ve PD gruplarında beyin SOD enzim aktivite değerlerinin K grubuna göre azalma eğiliminde olduğu, ancak bu azalışın istatistiksel olarak önemli düzeyde olmadığını tespit edilmiştir. Retina SOD enzim aktivite düzeyi deneysel Parkinson ve DHA diyetinden etkilenmemiştir.

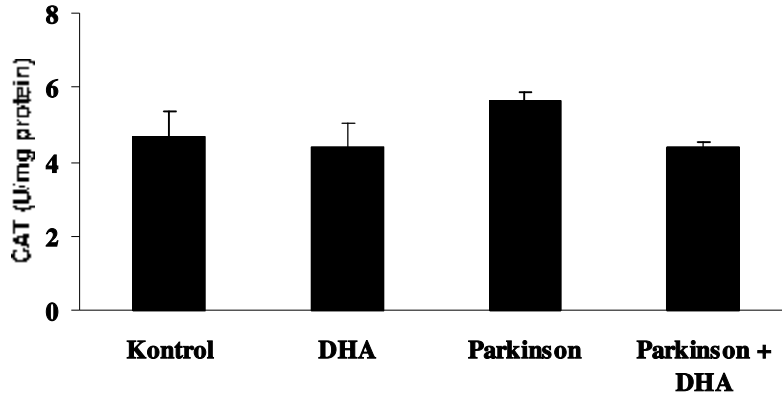


Şekil 4.5. Retina SOD aktivite değerleri

4.6.3. Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Sonuçları

4.6.3.1. Beyin Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Sonuçları

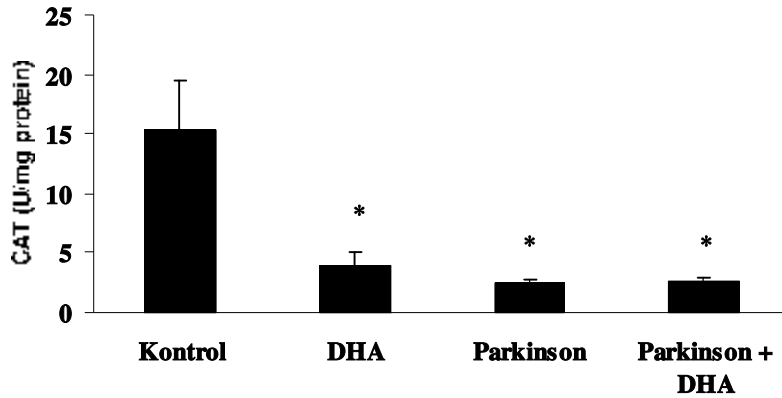
Beyin CAT enzim aktivite değerleri Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Beyin CAT enzim aktivite düzeyi deneysel Parkinson ve DHA diyetinden etkilenmemiştir.



Şekil 4.6. Beyin CAT aktivite değerleri

4.6.3.2. Retina Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Sonuçları

Retina CAT enzim aktivite değerleri Şekil 4.7'de gösterilmiştir. D, P ve PD gruplarında retina CAT enzim aktivite düzeylerinin K grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. Ancak PD ve P grupları arasında bir fark gözlenmemiştir. Deneysel Parkinsonun düşürdüğü retina CAT enzim aktivitelerine DHA'nın düzeltici etkisi olmamıştır.

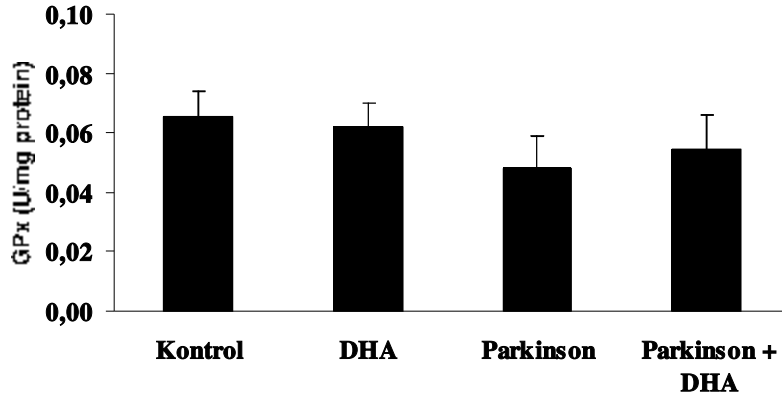


Şekil 4.7. Retina CAT aktivite değerleri *: $p < 0,05$ düzeyinde K grubundan fark

4.6.4. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivite Sonuçları

4.6.4.1. Beyin Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivite Sonuçları

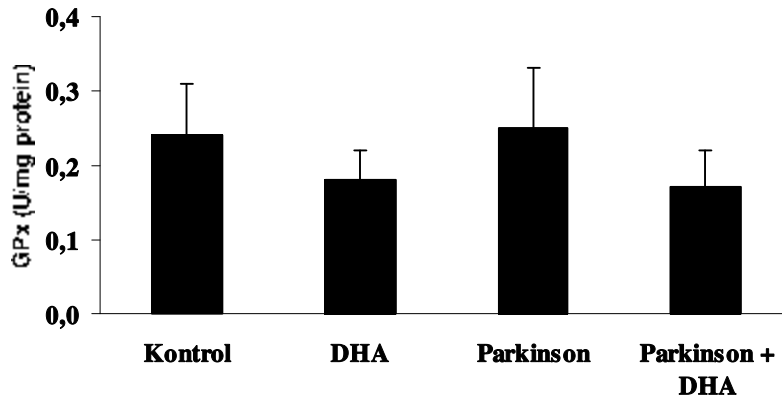
Beyin GPx enzim aktivite değerleri Şekil 4.8’de gösterilmiştir. Gruplar arasında GPx enzim aktiviteleri açısından istatistiksel olarak herhangi bir fark tespit edilmemiştir. Beyin GPx enzim aktivite düzeyi Parkinson ve DHA diyetinden etkilenmemiştir.



Şekil 4.8. Beyin GPx aktivite değerleri

4.6.4.2. Retina Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivite Sonuçları

Retina GPx enzim aktivite değerleri Şekil 4.9’da gösterilmiştir. Gruplar arasında GPx enzim aktiviteleri açısından istatistiksel olarak herhangi bir fark tespit edilmemiştir. Retina GPx enzim aktivite düzeyi Parkinson ve DHA diyetinden etkilenmemiştir.

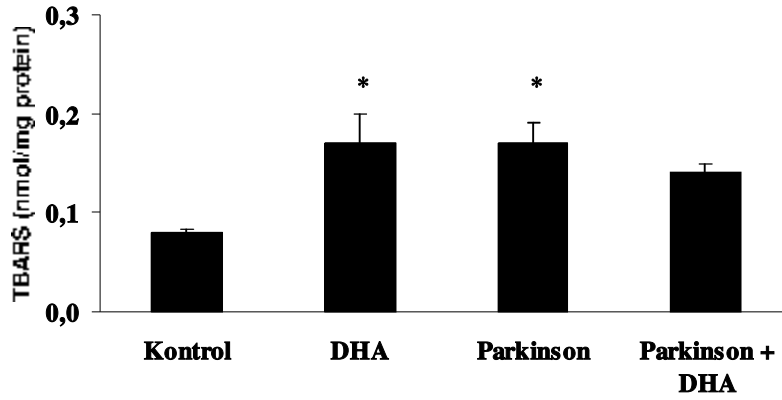


Şekil 4.9. Retina GPx aktivite değerleri

4.6.1. Doku Tiyobarbitürük Asit Reaktif Ürünleri (TBARS) Sonuçları

4.6.1.1. Beyin Tiyobarbitürük Asit Reaktif Ürünleri (TBARS) Sonuçları

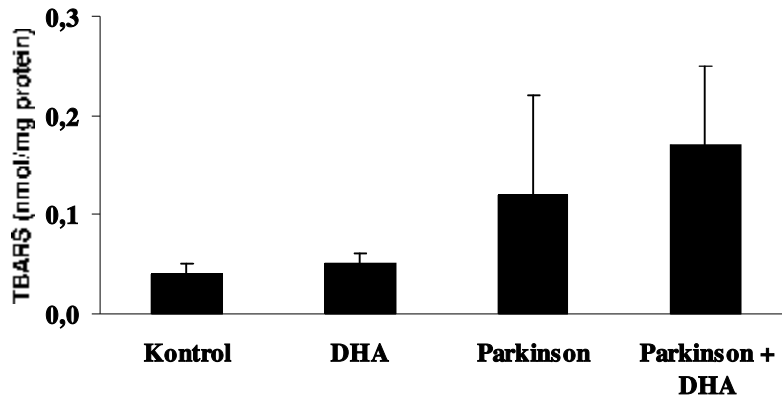
Beyin TBARS düzeyleri Şekil 4.10'da gösterilmiştir. K grubu ile karşılaştırıldığında beyin TBARS değerlerinin D ve P gruplarında istatistiksel olarak önemli derecede arttığı saptanmıştır. PD ile P grubu arasında ise fark gözlenmemiştir. Deneysel Parkinsonun yükselttiği beyin TBARS düzeyine DHA'nın düzeltici etkisi olmamıştır.



Şekil 4.10. Beyin TBARS değerleri *: p<0,05 düzeyinde K grubundan fark

4.6.1.2. Retina Tiyobarbitürük Asit Reaktif Ürünleri (TBARS) Sonuçları

Retina TBARS düzeyleri Şekil 4.11'de gösterilmiştir. P ve PD gruplarında TBARS değerlerinin K grubuna göre arttığı gözlenmiştir, ancak bu artış istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir.



Şekil 4.11. Retina TBARS değerleri

4.6.5. Görsel Uyarılma Potansiyelleri (VEP) Sonuçları

VEP'ler flaş uyarı ile sağ ve sol gözler ayrı ayrı uyarılarak (monoküler) kaydedilmiştir. VEP'lerin latens ve genlikleri karşılaştırıldığında aynı grup için sağ ve sol göz VEP'leri arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlenmemiştir. Dolayısıyla daha sonraki istatistiksel analizler sağ ve sol gözden kaydedilen VEP parametrelerinin ortalaması alınarak yapılmış ve değerlendirilmiştir.

VEP'lerin latens ortalama değerleri ve standart sapmaları Çizelge 4.3'de verilmiştir. K grubu ile karşılaştırıldığında D grubunun N2, P3 ve N3 bileşenlerinin latenslerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde uzadığı tespit edilmiştir. Hastalık durumu dışında DHA uygulaması bu VEP bileşenlerinde bozulmaya neden olmuştur. Aynı şekilde P grubunun N2, P3 ve N3 latenslerinde kontrole göre önemli düzeyde uzama tespit edilmiştir. P grubunda uzayan bu bileşen latenslerinin PD grubunda DHA uygulaması ile kontrol değerlerine çekildiği gözlenmiştir. P grubunda etkilenmeyen P1, N1 ve P2 bileşen latenslerinin ise PD grubunda kısalarak kontrol düzeyine geldiği tespit edilmiştir.

VEP'lerin genlik ortalama değerleri ve standart sapmaları Çizelge 4.4'de verilmiştir. Tepeden tepeye genlik değerleri incelendiğinde D, P ve PD gruplarının tüm bileşen genliklerinin K grubu bileşen genliklerinden önemli düzeyde düşük olduğu gözlenmiştir. Diğer taraftan PD grubunun tüm bileşen genliklerinin P grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla P grubunda azalan tüm bileşen genliklerinin PD grubunda DHA verilmesiyle artarak kontrol değerlerine yaklaştığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.3. VEP'lerde gözlenen piklerin latens (ms) değerleri *: $p < 0,05$ düzeyinde K grubundan fark, #: $p < 0,005$ düzeyinde P grubundan fark

GRUPLAR	P1 (ms)	N1 (ms)	P2 (ms)	N2 (ms)	P3 (ms)	N3 (ms)
Kontrol (K)	24,03 ± 0,34	30,08 ± 0,5	34,75 ± 0,64	39,28 ± 0,82	44,26 ± 0,81	50,18 ± 1,05
DHA (D)	23,60 ± 0,35	30,65 ± 0,5	35,50 ± 0,68	42 ± 0,67	47,75 ± 0,65	54,10 ± 0,62
Parkinson (P)	23,45 ± 0,61	31,4 ± 1,28	37,05 ± 1,32	43,8 ± 1,17	52,08 ± 1,05	58,3 ± 0,84
Parkinson+DHA (PD)	21,95 ± 0,34	26,85 ± 0,34	31,75 ± 0,37	37,75 ± 0,51	43,95 ± 0,64	50,4 ± 0,75

Çizelge 4.4. VEP'lerde gözlenen tepeden tepeye amplitüd (μV) değerleri: *: $p < 0,05$ düzeyinde K grubundan P grubundan fark #: $p < 0,05$ düzeyinde K grubundan fark #: $p < 0,05$ düzeyinde P grubundan fark

GRUPLAR	P1N1 (μV)	N1P2 (μV)	P2N2 (μV)	N2P3 (μV)	P3N3 (μV)
Kontrol (K)	3,90 \pm 0,37	4,03 \pm 0,59	4,34 \pm 0,73	3,63 \pm 0,53	3,40 \pm 0,35
DHA (D)	0,96 \pm 0,15 *	1,56 \pm 0,2 *	1,72 \pm 0,24 *	1,27 \pm 0,21 *	1,41 \pm 0,28 *
Parkinson (P)	1,13 \pm 0,17 *	0,92 \pm 0,12 *	1,03 \pm 0,17 *	1,01 \pm 0,18 *	1,02 \pm 0,18 *
Parkinson + DHA (PD)	2,07 \pm 0,26 * #	1,83 \pm 0,18 * #	2,28 \pm 0,25 * #	2,20 \pm 0,34 * #	1,89 \pm 0,26 * #

TARTIŞMA

PH'da VEP bileşen latenslerinde meydana gelen uzamanın mekanizması tam olarak bilinmediğinden aydınlatılmak üzere planlanan bu çalışmamızla; deneysel fare Parkinson modelinde VEP latenslerinin önemli ölçüde uzadığı, DHA uygulamasının bu uzamayı hafiflettiği ancak bu etkinin antioksidan enzim aktiviteleri ve LP ile ilişkili olmadığını, dolayısıyla meydana gelen söz konusu düzelmede başka mekanizmaların rolü olabileceğini göstermiştir.

Dünya üzerinde merkezi sinir sistemi (MSS) bozukluklarına sahip insan sayısının 368 milyon olduğu tahmin edilmektedir. Nörodejeneratif hastalıklar arasında en yaygın olanları AD, PI ve Amilotrofik Lateral Skleroz (ALS)'dur. Yaşlı popülasyon arttıkça bu yaşa bağımlı hastalıkların prevalansı artmaktadır. Nörodejeneratif hastalıkların ortak patolojik özellikleri belirli nöron gruplarının kaybıdır. Bu hastalıkların sebebi bilinmemekle birlikte, ilerlemelerini önemli derecede engelleyen tedavi şekilleri henüz keşfedilmemiştir.

İnsanlarda Parkinson modeli oluşturmak ve Parkinson hastalarında bazı klinik çalışmalarını yapmak etik olarak mümkün olmamaktadır. Bu durumda, deney hayvanlarında Parkinson modelleri oluşturularak PI'nin patogenezinin aydınlatılması ve hastalık üzerine kimyasal madde etkilerinin bu modeller ile test edilebilmesi önem kazanmaktadır (297). Bu amaçla 6-OHDA ve MPTP gibi katekolaminerjik sistemi seçici olarak bozan ve yılan nörotoksinler ve son yıllarda dikkati çeken paraquat, rotenon ve maneb gibi tarım kimyasalları kullanılmaktadır (36). Tüm nörotoksin indüklü modellerin ortak özelliği mitokondriyal kompleks I ya da III'ü inhibe ederek mitokondriyi etkilemeleridir. Doğal NT DA'nın hidroksillenmiş analogu olan 6-OHDA (298), katekolaminerjik sinir uçlarında harabiyete neden olarak DA sentez ve salınmasını azaltan ve buna bağlı olarak santral dopaminerjik aktiviteyi bozan bir nörotoksindir. 6-OHDA, sistemik olarak uygulandığında kan beyin bariyerini geçemez. Sıçanların striatum veya SN'lerine stereotaksik olarak enjekte edildiğinde oldukça yüksek düzeyde dopaminerjik nöronu hasara uğratan 6-OHDA, ölçülebilir motor bozukluklar (dönme hareketi)'i de indüklür. Sözü geçen tarım kimyasalları ise sistemik olarak uygulandığında PI'nin spesifik özelliklerini yansıtan toksinlerdir. Ancak sadece MPTP modeli kesin olarak bir insan parkinsonizm formuna bağlanmıştır ve bu nedenle en yaygın kullanılan modeldir (36,299).

MPTP, PI'nin kronik nörodejeneratif sürecinden farklı olarak akut bir intoksikasyon oluşturmaya rağmen, PH çalışmalarını için 'altın standardı' olarak kabul edilmektedir (92). MPTP ile oluşturulan nigrostriatal yolak lezyonu daha çok primatlarda uygulanmakta ve PH'nin tremor, rijidite, bradikinezi, postural bozukluk ve donup kalma gibi özellikleri ile karakterize, geri dönüşümsüz ve şiddetli Parkinson sendromunu oluşturmaktadır (4). Maymunlarda ve farelerde MPTP uygulamasını takiben SNpc'de dopaminerjik hücre gövdelerinin sayılarının, striatal DA içerik ve metabolitlerinin belirgin derecede azaldığı tespit edilmiştir (92).

Zamanla teknik ve ekonomik sebeplerden dolayı araştırmacılar MPTP uygulama çalışmaları için kemirgenlere yönelmiştir. Primatlara zıt olarak, kemirgenler MPTP toksisitesine daha az duyarlıdır (300). Farelerde dopaminerjik nöronların önemli derecede kaybı için daha yüksek dozlara ihtiyaç duyulmuştur. Bununla birlikte, C57BL/6 fare ırkının, sistemik MPTP enjeksiyonuna diğer fare ırklarına oranla daha duyarlı olduğu ve bu modelde MPTP'nin mezensefalik dopaminerjik nöronları etkilemede oldukça seçici olduğu bildirilmiştir (36). Dolayısıyla MPTP fare modeli, nöropatolojik ve nörokimyasal değişiklikleri çalışmak için PIT'nin en kullanışlı hayvan modelidir (300). Ancak MPTP uygulanmış fareler maymunların tersine devamlı ve ilerleyici motor semptomlar geliştiremez (301) ve monitörize edilen davranışsal farklılıklar neredeyse tamamen geri dönmeye eğilimindedir. Dolayısıyla davranışsal testler için MPTP maymun modeli daha uygun görülmektedir. Ayrıca MPTP uygulanmış kemirgenlerde hiçbir zaman LB'lerin tanımlanmamış olması idiyoPATIK PH ile MPTP-indkt deneysel Parkinson arasındaki temel farklılığa işaret etmektedir.

MPTP, deney hayvanlarına gavaj veya stereotaksik enjeksiyon gibi farklı yöntemlerle uygulanabilir ancak en yaygın formu sistemik (subkutan, intravenöz, intraperitoneal veya intramusküler) uygulamasıdır (301). Dopaminerjik hasarın seviyesi, MPTP uygulama programına ve dozuna bağlıdır. Schmidt ve Terger (300)'e göre farelerde farklı MPTP uygulama programı ile nigrostriatal hasarın zamanlaması ayarlanabilir, ayrıca nekrotik veya apoptotik nöron ölümleri indüklenerek presemptomatik, hızlı başlangıç, subkronik ve ilerleyici kronik gibi inşam PIT'sinin farklı aşamaları taklit edilebilir. Mevcut alışmamızda baskın olarak nekrotik hücre ölümü ile hızlı bir dopaminerjik dejenerasyonu indükleyen orta dozda (4x20mg/kg) MPTP intraperitoneal yolla C57BL/6 farelere uygulanmış ve böylece deneysel olarak hızlı PH oluşturulmuştur (300,286). Hayvanların ileri yaşta olmalarından dolayı MPTP uygulama programı sırasında ölüm riskini azaltmak amacıyla enjeksiyon 12 saat aralıklarla 2 ardışık günde tamamlanmıştır (302). Çalışmamızda bu uygulama programını seçmemizin nedeni bu programın MPTP indkt hücre ölümlerine OS'nin katılımını araştırmak ve davranışsal testleri çalışmak için elverişli olmasıdır. Bu uygulama modeli başlıca OS'nin katıldığı, apoptotik olmayan hücre ölüm morfolojisi gösteren bir mekanizma ile SNpc dopaminerjik nöronlarının %70-80'inin kaybına neden olmaktadır. Sıçanlarda sistemik MPTP uygulaması çok yaygın kullanılmamakla birlikte çalışmalardan elde edilen veriler de çelişkilidir. Farelerde kullanılan dozlar sıçanlara sistemik uygulandığında önemli bir dopaminerjik dejenerasyon gözlenmemiş, yalnızca çok sık ve yüksek dozlar uygulandığında dejenerasyon tespit edilmiştir. Ancak bu durumda deneklerin yüksek ölüm oranını azaltmak için n uygulama olarak farklı kimyasallar kullanılmıştır (303). Sıçanların sistemik MPTP toksisitesine farelerden daha az hassas olması nedeniyle çalışmamızda kendi türü içerisinde söz konusu toksisiteye en duyarlı olan C57BL/6 fareler kullanılmıştır. Ayrıca, alışmamız PH'da görsel sistemde meydana gelen değişiklikler üzerine kurulduğundan, farede sistemik uygulandığında kolaylıkla kan beyin bariyerini geçip sistemik Parkinsonizm oluşturan MPTP intoksikasyonu tercih edilmiştir.

Görsel yolak boyunca dopaminerjik nöronların bulunması Parkinsonlu hastalarda görsel sistemin etkilenip etkilenmediği sorusunu akla getirmiştir. VEP, görsel sistemin fonksiyonel değerlendirilmesinde kullanılan duyarlı ve güvenilir bir yöntem olduğu (8) için VEP'lerin değişmesi görsel sistemin önemli ölçüde değiştiğinin göstergesidir. 1978'de Bodis Wollner ve Yahr'ın Parkinsonlu hastalarda anormal VEP'leri tespit etmelerinden sonra (6) konu ile ilgili pek çok araştırma yapılmıştır. Parkinsonlu hastalarda görsel duyarlılık ve görsel alan testleri normaldir ancak VEP gibi elektrofizyolojik çalışmalar bir spatio-temporal bozukluğun olduğunu göstermektedir (6,7). Ayrıca, PIT'da, görsel sistemin önemli bir nörotransmitteri olan DA'nın seviyesinin retinada düştüğü bildirilmiştir (5).

Görsel sistemi etkileyebilecek diğer bir faktör de hücre membranlarında bulunan FFA'lardır (10,11,20). Beyin fosfolipid fraksiyonundaki genel kompozisyonuna bakıldığında, temel PUFA'nın DHA olduğu tespit edilmiştir (9,16). Diyetle farklı yağların alınması sonucunda, beyin membranlarındaki yağ asidi kompozisyonunun değiştirilebildiği farklı araştırmalar sonucunda ortaya konmuştur (9,17,18,19). Yüksek düzeyde C20 ve C22 yağ asidi içeren balık yağları, özellikle DHA olmak üzere beyin PUFA konsantrasyonlarına en fazla etki eden yağ grubudur (9,20). Çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, hücre membranlarında DHA'nın bulunması beyin fonksiyonlarının yerine getirilmesinde önemli rol oynamadığı (9,21,22,23,24) gibi görsel sistemi de etkilemektedir. DHA'dan zengin diyetle beslenen gebe bayanların çocuklarında retinal fonksiyonların ve görsel yolağın gelişiminin hızlandığı, VEP latenslerinin kısaldığı Malcolm ve arkadaşlarının (25) yaptıkları çalışma ile gösterilmiştir.

PH'da serbest radikallerin artışıyla birlikte hücre membranındaki PUFA konsantrasyonunda kayda değer bir azalmanın meydana geldiği tespit edilmiştir (9). Hücre membranındaki PUFA'lar, sinyal molekülleri, ikincil haberciler, enzimler ve taşıyıcılar üzerinde düzenleyici rol oynamadıkları için PUFA'ların membrandaki eksiklikleri patolojik süreçleri hızlandırabilir. Çalışmamızda PIT'da meydana gelen membran PUFA içeriğini belirli bir düzeyde tutmak üzere deney hayvanlarına 1 ay süreyle DHA uygulanmıştır.

Literatürde sunulan sonuçlardan, ω -3 yağ asitleri ile LP oluşumu arasındaki ilişkinin karmaşık ve çelişkili olduğu dikkati çekmiştir. Nenseter ve Drevon'a (304) göre ω -3 yağ asitlerinin alımı, biyolojik membranlardaki doymamışlık indeksini arttırdığı için, LP'de artmaktadır. Bu hipotezi destekleyen başka bulgular da mevcuttur (305,306). Diğer taraftan, başka çalışmalarda DHA'nın diyetle alınmasının TBARS üretimini önemli derecede inhibe ettiği saptanmıştır (307,308). Sonuçlar arasındaki tutarsızlığın çalışılan populasyonun farklılığından, kullanılan ω -3 PUFA dozundan, deneysel protokolün süresinden veya diyetin antioksidanlar ile desteklenip desteklenmediğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Karaciğer ve beyin fosfolipidlerindeki DHA içeriğinin normal düzeylerde sürdürülmesi için günlük alınması gereken DHA dozunun genç bireylerde 11 mg/kg, yaşlı bireylerde ise 6 mg/kg olduğu önerilmiştir (285). Kremer ve arkadaşlarının

(309) romatoid artritli hastalarda gerçekleştirdiği çalışmada. DHA'nın iki farklı dozu (düşük-18 mg/kg, yüksek-36 mg/kg) kullanılmıştır. Bu sonuçlara göre, ω-3 yağ asitlerinin yararlı klinik etkilerinin gözlenebilmesi için **yüksek dozun tercih edilmesi gerektiği bildirilmiştir (309)**. Dolayısıyla, çalışmamızda kullanılan DHA'nın dozu maddenin yararlılığını ortaya koyacak şekilde literatürdeki bulgular **(285,309)** değerlendirilerek 36 mg/kg/gün olarak tespit edilmiştir.

Deney hayvanlarında özellikle dopaminerjik ve katekolaminerjik sinir yollarında gelişen nöron harabiyeti ve kullanılan maddelerin hücre hasarına etkisi, motor aktivite testleri ile incelenmektedir. Çalışmamızda Parkinson modeli oluşturulduktan 7 gün sonra, motor aktiviteyi belirlemek için PII'nin spesifik semptomlarından bradikinezi şiddeti değerlendirilmiştir. Kelime anlamı istemli hareketlerde yavaşlama olan bradikinezi, genellikle hareketin başlatılmasında gecikme şeklinde tanımlanmaktadır. Bu gecikme süresinin uzaması bradikinezi şiddetinin arttığını gösterir. Çalışmamızda, bradikinezi şiddeti (harekete geçme zamanı)'nin tespiti için çubuk testi kullanılmış, dopaminerjik harabiyetin sonucu olarak P grubundaki hayvanların bradikinezi şiddetinin K grubuna göre önemli düzeyde uzadığı gözlenmiştir. PII'nin motor aktiviteyi bozduğu dikkate alındığında elde ettiğimiz bu sonuç uyguladığımız deneysel Parkinson modelinin başarılı olduğunu göstermektedir. PD grubu ile P grubu arasında ise bradikinezi şiddeti açısından fark saptanmamış, dolayısıyla diyetel DHA uygulamasının farelerde PH durumunda motor aktiviteyi düzeltici yönde etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, uygulanan Parkinson modelinin başarısını histopatolojik olarak desteklemek amacıyla TH immunoreaktif hücrelerin sayısını gösteren immunohistokimyasal çalışma yapılmıştır.

Çalışmamızda TH ile boyanmış kesitler değerlendirildiğinde, P grubunda diğer tüm gruplara göre sinir liflerinin uzantı organizasyonunun belirgin biçimde bozulduğu ve uzantı sayılarının azalarak daha seyrek ve gevşek seyrettiği, immünpozitif hücre sayısının azaldığı gözlemlenmiştir. Bu sonuç motor aktivite testinden elde ettiğimiz verileri destekler niteliktedir. Bunun dışında, DHA'nın hastalık durumu dışında uygulanması da nöronal organizasyon ve immünpozitif hücre sayısı açısından benzer etkiler yaratmış ancak etki P grubundaki kadar şiddetli olmamıştır. PH durumunda DHA uygulamasının ise bu parametre açısından düzeltici etki oluşturduğu ancak K grubu seviyesine kadar düzeltmediği görülmüştür. Bu sonuç ise motor aktivite testi verileri ile uyum göstermemektedir. Sonuç olarak çalışmamızda DHA'nın nöronal organizasyon ve immünpozitif hücre sayısı üzerine düzeltici etkisinin PH'da motor aktiviteyi iyileştirici düzeyde olduğunu saptanmıştır.

PII'da, görsel bozukluklar ile hastalığın şiddeti arasında pozitif korelasyon olduğu (310), latenslerin uzadığı (6,7,310) pek çok VEP çalışması ile kanıtlanmıştır. Parkinsonlu hastalarda kayıt edilen VEP'lerde özellikle P100 latenslerinin uzadığı (310), bu uzamanın DA eksikliği ile ilişkili olduğu (311) ve hareket yetersizliğinin şiddetiyle pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (310). İnsan VEP kayıtlarında P100 bileşeni kemirgenlerde P3 bileşenine karşılık gelmektedir. Çalışmamızda kayıt edilen VEP latens değerlerine göre literatürle uyumlu olarak P grubunun P3 bileşeninde, ayrıca N2 ve N3 bileşenlerinde önemli düzeyde uzama tespit edilmiştir.

Bu bulgu elde ettiğimiz bradikinezi şiddeti verileriyle de uyum göstermektedir. Bunun yanında PD grubunda, P grubunda uzayan N2, P3 ve N3 bileşen latenslerinin kısalarak kontrol değerlerine döndüğü gözlenmiştir. Ayrıca PD grubunda P1, N1 ve P2 gibi erken bileşenlerin latenslerinin kontrol değerlerinin altına indiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak çalışmamızda PII'da VEP'in geç bileşenlerinin uzayan latensleri üzerine DHA diyetinin düzeltici etkisi olduğu kanıtlanmıştır. Ek olarak hastalık durumu dışında DHA diyet uygulamasının VEP'in geç bileşenlerinin latenslerini önemli düzeyde uzattığı da saptanmıştır. Bu sonuç normal koşullarda DHA diyetinin, görsel sistem üzerine bozucu etki gösterebileceğini kanıtlamaktadır. Kullandığımız dozda DHA diyet uygulamasının, kontrol sıçanlarının VEP bileşen latenslerini uzattığını gösteren çalışma (312) elde ettiğimiz bu bulguyu destekler niteliktedir.

PII'da görsel bozukluklar ile ilgili olarak latens uzamalarının yanında genliklerin azaldığı bildirilmiştir (313). Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda P grubunun tüm VEP bileşenlerinin genliklerinde önemli düzeyde azalma gözlenmiştir. PD grubunda ise P grubunda azalan tüm genliklerin kontrol değerlerine yaklaşma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir, ancak bu düzelme istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir. Sonuç olarak çalışmamızda DHA diyet uygulamasının PII'da azalan genlik değerleri üzerine düzeltici etki göstermediği saptanmıştır. Ayrıca hastalık durumu dışında DHA, tüm VEP bileşen genliklerinde P grubundaki kadar şiddetli olmayan ancak istatistiksel olarak önemli düzeyde azaltma etkisi göstermiştir. Ancak genliklerle kıyaslandığında VEP latensleri, görsel sistem değişikliklerini ortaya koyan daha duyarlı ve önemli bir parametre olduğu için karşılaştırmalarda genellikle VEP bileşenlerinin latens değişiklikleri değerlendirilmektedir.

PII'nın VEP'ler üzerine etki mekanizmasının aydınlatılması için PH patogenezi ile ilgili hipotezler oldukça önemlidir. Bu hipotezlerden biri de dopaminerjik nöron kaybında, serbest radikallerin fazla üretiminin ve düşük antioksidan sistem kapasitesinin neden olduğu OS'nin rol aldığıdır. Beyin fazla oksijen tüketimi, yüksek PUFA içeriği ve nöronların kendini yenileyemeyen doğalarından dolayı OS'ye karşı hassastır (314). OS'nin temel sonucu hücrel makromoleküllerin hasara uğramasıdır. SOD, CAT ve GPx enzimleri, serbest radikal hasarına karşı enzimatik koruma sağlayan antioksidan enzimlerdir. Bu enzimlerin ölçümü PH'da antioksidan yetersizliğinin olup olmadığı ve buna bağlı olarak PII patofizyolojisi ile ilgili ipuçları vermektedir. Ancak PH'da bu enzimlerin defekti ile ilgili genelleşmiş bir belirti yoktur.

Antioksidan enzim aktiviteleri Parkinsonlu hastaların ve Parkinson modeli oluşturulmuş deney hayvanlarının çeşitli beyin bölgelerinde, kanlarında, serumlarında ve serebrospinal sıvılarında belirlenmiştir. Parkinsonlu hastaların eritrosit çalışmalarında antioksidan enzim aktiviteleri değerlendirildiğinde farklılıklar saptanmamış dolayısıyla SN'de meydana gelen değişikliklerin altında genetik anomalilerin yatmadığı kanısına varılmıştır (315). Mevcut çalışmamızda antioksidan enzim aktiviteleri tüm beyin dokusunda ve retinada değerlendirilmiştir. SOD enziminin normal antioksidan savunma mekanizmasında kritik bir rolü olduğu bilinmektedir ancak MPTP uygulaması sonrasında endojen SOD aktivitesinde

meydana gelen değişiklikler henüz tam olarak açık değildir. Çalışmalarda SOD enzim aktivitesi genellikle Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve total SOD olarak ayrı ayrı tayin edilmiştir. Mevcut çalışmamızda ise beyin ve retina dokularında total SOD enzim aktivite düzeyi tayin edilmiş; beyinde SOD enzim aktivitesinin K grubuna göre P grubunda önemli düzeyde azaldığı, retinada ise değişmediği saptanmıştır. Literatürde farklı beyin bölgelerinde SOD aktivitesi açısından eklediğimiz veriler ile uyumlu sonuçlar (316, 317) olduğu gibi arttığını (318) veya değişmediğini (83) gösteren bulgular da mevcuttur. Örneğin, Hodgson ve Fridovich'in (316) yapıldığı çalışmada Parkinsonlu sıçan beyinlerinin striatum bölgesinde SOD enzim aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Ihara ve arkadaşları PII'da, 'OH ve Cu/Zn-SOD enzim aktivitesi arasında bir korelasyon olduğunu göstermiş (317), yüksek 'OH seviyesi ve düşük Cu/Zn-SOD aktivitesinin PH'nın ilerleme atağında rol alabileceği yorumu yapılmıştır. Bunların dışında, SOD enzim aktivitesi ile PII şiddeti arasında negatif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir (319).

Post-mortem uygulanan bir çalışmada (320) SN, serebral korteks, kaudat nükleus, putamen ve globus pallidus gibi farklı beyin bölgelerinde GPx aktivitesi açısından Parkinsonlu hastalar ile kontroller arasında fark gözlenmemiştir. Bu çalışmada ayrıca SN'de GSTT seviyesinde azalma olduğu, GSSG düzeyinin ise değişmediği gösterilmiştir (320). Post-mortem beyin dokularında yapılan başka bir çalışmada (321) ise SN'de, OS'ye karşı koruyucu mekanizmaların çok fazla etkilenmediği belirtilmiştir. Bu çalışmaya göre Parkinsonlu hastaların SN'lerinde GPx ve CAT enzim aktiviteleri değişmemiştir. Diğer taraftan literatürde farklı beyin bölgelerinde CAT ve GPx enzim aktivitelerinin azaldığı (81) ya da arttığı (322) bildirilmiştir. Mevcut çalışmamızda beyin ve retinada GPx enzim aktivitesi açısından P ve K grubu arasında fark saptanmamıştır. Bunun yanında CAT enzim aktivitesinin beyinde değişmediği retinada ise K grubuna göre P grubunda azaldığı tespit edilmiştir. Beyinde GPx ve CAT enzim aktiviteleri ile ilgili elde ettiğimiz veriler bu enzimlerin aktivitelerinin beyinde değişmediğini tespit eden literatür çalışmaları ile uyum göstermektedir. Diğer taraftan CAT enzim varlığının peroksizomlar ile sınırlandırıldığı (323) göz önüne alındığında bu enzimin beyin için önemi bugün için açıklanamamaktadır. Ancak bulgularımızla uyumlu olarak beyinde SOD enziminin önemli antioksidan enzim olduğu, retinada ise antioksidan sistem devamlılığının sağlanması için CAT enzim aktivitesinin önemli rolü olduğu bildirilmiştir (324).

Çalışmamızda P grubunda gerek beyinde gerekse retinada söz konusu antioksidan enzim aktivitelerinin çeşitli farklılıklar sergilediği gösterilmiştir. Ancak bu parametreler açısından PD grubu ile P grubu arasında fark saptanmamıştır. Dolayısıyla elde ettiğimiz verilere bağlı olarak PH'da antioksidan enzim aktivite değişikliklerine DHA'nın etki etmediğini söyleyebiliriz.

ω -3'ten zengin diyetin, karaciğer, kalp, adipoz doku ve beyinde ω -3 PUFA düzeyini arttırdığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (325). Ancak PUFA, LP'ye karşı hassastır ve artışı hücre hasarına sebebiyet veren zararlı etkiler yaratabilir (326). Chci, DHA'nın hastalık durumu dışında LP'yi arttırdığı tespit etmiştir (327). Lipidlerdeki bu değişiklik antioksidan savunma sistemine katılan enzimlerin aktivitelerini etkileyebilir. Örneğin, diyetel ω -3 PUFA'nın, peroksizomal β -

oksidasyonu arttırdığı bilinmektedir (328). β -oksidasyonun esas enzimi yağ-açıl CoA oksidaz, OS'ye sebebiyet veren H_2O_2 'yi üretir (329). Muhtemelen bu üretime bağlı olarak CAT enzim aktivitesinin artış gösterdiği bildirilmiştir (330). Bununla birlikte, ω -3 PUFA'nın antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi ile ilgili sonuçlar çelişkilidir. Bazı çalışmalar ω -3 PUFA'dan zengin diyetle beslenen hayvanların antioksidan enzim aktivitelerinin arttığını (331,332,333) gösterirken, bazı çalışmalar azaldığını (334,335) göstermiştir. Çalışmamızda DHA diyeti sonrasında beyinde LP'nin arttığı ancak antioksidan enzim aktivitelerinin değişmediği tespit edilmiştir. Retinada ise DHA uygulamasını takiben LP'nin değişmediği, CAT enzim aktivitesinin ise azaldığı saptanmıştır. Bu sonuçlar gelişilen dokulardan kaynaklı olabilir. Çünkü yapılan çalışmalarda DHA diyeti sonrasında antioksidan enzim aktiviteleri açısından beyin belirli bölgelerinde (327), karaciğerde (330) ve fibroblastlarda (336) belirli farklılıklar saptanmıştır. Dolayısıyla hastalık durumu dışında çalışmamızda antioksidan enzim aktivitelerinde çok fazla değişiklik gözlenmemesini bu şekilde açıklamak mümkündür. Elde ettiğimiz sonuç, beyin LP düzeyinde meydana gelen artışın NO ya da TG yolu üzerinden veya hücre içi başka mekanizmalarla olabileceğine işaret etmektedir. Sonuç olarak hastalık durumu dışında zararlı etkiler meydana getirdiği gösterilen DHA diyeti, normal beslenme ile yeterli düzeyde EPA'nın alınmadığı durumlarda uygulanmalıdır. Ayrıca DHA'nın sitotoksik etkisinin Vit E gibi antioksidanlarca engellendiği kanıtlanmıştır (337). Dolayısıyla normal koşullarda vitamin eklemeli bir DHA diyeti önerilebilir.

PH'da, H_2O_2 'nin ve oksijen kıymaklı serbest radikallerin neden olduğu OS, hücre membranlarında LP zincir reaksiyonu aracılığıyla ve membran akışkanlığını değiştirerek hücre hasarına sebep olabilir (30). Çünkü SN, fazla miktarda DA içerir ve DA'nın enzimatik ve enzimatik olmayan otooksidasyonu sonucunda $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 oluşur (70). Ortamdaki fazla H_2O_2 , Fe^{+2} varlığında $\cdot OH$ 'ya dönüşür (71,30) ve bu radikal de hücrelerde LP oluşturarak hücre ölümlerine neden olabilir. Diğer taraftan nörotoksin MPTP'nin mekanizmasının da OS üzerinden olduğu görülmektedir. MPTP metaboliti MPP^{+} 'nin, mitokondri solunum zincirinin ilk enzimi kompleks I'ı inhibe ettiği ve dolayısıyla $O_2^{\cdot-}$ üretimini artırdığı (69) bilinmektedir. Parkinsonda SN'de LP metaboliti olan MDA'nın arttığı tespit edilmiştir (76). Ayrıca bir fare Parkinson modelinde nigrostriatal yolağı içine alan beyin kökünde MDA seviyesinin arttığı saptanmıştır (338). LP'de meydana gelen bu artışların, azalmış olan antioksidan enzim aktiviteleri sonucu olabileceği bildirilmiştir (339). Çalışmamızın doku TBARS bulguları bu bilgileri destekler niteliktedir. Özellikle beyinde K grubu ile karşılaştırıldığında P grubunda TBARS düzeyiminin arttığı saptanmıştır. PH'da bir LP göstergesi olan TBARS'ın artışı ile VEP'in N2, I3 ve N3 bileşen latenslerindeki uzamanın ilişkili olabilir. Çünkü çalışmamızda, P grubunda hem antioksidan enzim aktivitelerinde azalma hem de LP'de artış saptanmıştır. Bu bulgular PH'da serbest radikal artışını ve hücre zararında LP'yi gösterir ki VEP latensleri bu faktörlere duyarlıdır. Ancak elde ettiğimiz verilere göre PD grubu ile P grubu arasında doku TBARS düzeyi açısından fark saptanmamıştır. Dolayısıyla PH'da TBARS düzeyinde meydana gelen artış üzerine DHA'nın düzeltici etki göstermediğini söyleyebiliriz. PD gruplarında meydana gelen gerek TII inmünpozitif hücre sayısındaki gerekse VEP latenslerindeki düzelmeyi LP'ye bağlamak mümkün görünmemektedir. Bu durumu PH'da DHA'nın latensler üzerine düzeltici etkisinde başka mekanizmaların rolü olduğunu göstermektedir. DHA, fotoreseptörlerde rodopsin, cGMP ve enzimlere

etki ederek bu fonksiyon gösteriyor olabilir. Çünkü fotoreseptör hücre membranlarında PUFA eksik oluturulmuş olabilir bu da sinyal mekanizmalarını, G proteinini ve cGMP'yi etkileyecektir. DHA'nın MAO enzim aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir. Dolayısıyla ortamda bulunan DA'nın parçalanmaması da etki eden nedenlerden biri olabilir. Diğer taraftan NO, görsel sistemde önemli bir nörotransmitterdir ve DHA'nın NO'yu arttırdığı bilinmektedir. Daha önceki çalışmada L-NAME verilen hayvan gruplarında VEP latenslerinin uzadığı tespit edilmiştir (340). Dolayısıyla DHA'nın etkisi bu yol ile olabilir. Ancak DHA'nın PH'da VEP latensleri üzerine gösterdiği bu faydalı etkinin aydınlatılması için ileri çalışmalara gereksinim vardır.

SONUÇLAR

Çalışmamızın sonuçları şöyle özetlenebilir;

1. Deneysel PII'da VEP latenslerinin önemli ölçüde uzadığı tespit edildi. Bu bulgu daha önceki çalışmaları destekler niteliktedir.
2. Deneysel PII'da beyinde LP'nin arttığı belirlendi.
3. Deneysel PII'da beyin SOD enzim aktivitesinin azaldığı saptandı. Bu azalmanın PII'da meydana gelen LP artışında rolü olabilir.
4. DHA uygulamasının deneysel PII'da VEP latenslerini düzelttiği, TH immunpozitif hücre sayısındaki azalışı hafiflettiği görüldü.
5. DHA'nın deneysel PII'da antioksidan enzimler ve LP üzerine etkisinin olmadığı dikkati çekmiştir.
6. Deneysel PII'da DHA uygulamasını takiben VEP latenslerinde meydana gelen düzelmede başka mekanizmaların rolü olduğuna işaret etmiştir.

KAYNAKLAR

1. Parkinson J. *An Essay on the Shaking Palsy*. Sherwood, Neely, and Jones London, 1817.
2. Fahn S. Parkinsonism. In: Wyngaarden JB, Smith Jr LH, editors. Cecil's textbook of medicine. Philadelphia: Saunders; 1988.p.2143-2147.
3. Kidd PM. Parkinson's Disease as multifactorial oxidative neurodegeneration: implications for integrative management. *Altern Med Rev*. 5: 502-529, 2000.
4. Dauer W and Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*. 39: 889-909, 2003.
5. Langheinrich T, Tebartz van Elst L, Lagreze WA, Bach M, Lucking CH, Greenlee MW. Visual contrast response functions in Parkinson's disease: evidence from electroretinograms, visually evoked potentials and psychophysics. *Clin Neurophysiol*. 111(1): 66-74, 2000.
6. Bodis-Wollner I and Yahr MD. Measurement of visual evoked potentials in Parkinson's disease. *Brain* 101: 661-671, 1978.
7. Bodis-Wollner I, Marx MS, Mitra S, Bobak P, Mylin L and Yahr M. Visual dysfunction in Parkinson's disease loos in spatiotemporal contrast sensitivity. *Brain* 110: 1675-1698, 1987.
8. Celesia GG. Evoked potentials techniques in the evaluation of visual function. *J Clin Neurophysiol*. 1: 55-76, 1984.
9. Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *Int J Devl Neuroscience*. 18: 383-399, 2000.
10. Bourre JM, Piciotti M, Dumont O, Pascal G, Durand G. Dietary linoleic and polyunsaturated fatty acids in rat brain and other organs. Minimal requirements of linoleic acid. *Lipids* 25: 465-472, 1990.
11. McGee CD, Greenwood CE, Cinader B. Dietary effects fat composition and age affect synaptosomal and retinal phospholipid fatty acid composition in C57BL/6 mice. *Lipids* 29: 605-610, 1994.
12. Roche HM. Unsaturated fatty acids. *Proc Nutr Soc*. 58: 397-401, 1999.
13. Ehringer W, Belcher D, Wassall SR, Stillwell W. A comparison of the effects of linolenic (18:3 omega 3) and docosahexaenoic (22:6 omega 3) acids on phospholipid bilayers. *Chem Phys Lipids*. 54 (2): 79-88, 1990.
14. Salem NJ, Niebylski CD. The nervous system has an absolute molecular species requirement for proper function. *Mol Membr Biol*. 12: 131-134, 1995.
15. Stillwell W, Ehringer W, Janski LJ. Docosahexaenoic acid increases permeability of lipid vesicles and tumor cells. *Lipids*. 28: 103-108, 1993.
16. Lopez GH, Ilincheta de Boschero MG, Castagnet PI, Giusto NM. Age associated changes in the content and fatty acid composition of brain glycerophospholipids. *Compara Biochem Physiol*. 112: 331-343, 1995.
17. Bourre JM, Nonneil M, Dumont O, Piciotti M, Claaf R, Portugal H, Nalbone G, Lafont H. Effect of increasing amounts of dietary fish oil on brain and liver fatty acid composition. *Biochim biophys Acta*. 1043: 149-152, 1990.

18. Ikeda I, Mitsui K, Imaizumi K. Effect of dietary linoleic, alpha-linolenic and arachidonic acids on lipid metabolism, tissue fatty acid composition and eicosanoid production in rats. *J Nutr Sci Vitaminol.* 42: 541-551, 1996.
19. Lui Y, Longmore RB. Dietary sandalwood seed oil modifies fatty acid composition of mouse adipose tissue, brain and liver. *Lipids* 32: 965-969, 1997.
20. Brown NP, Bron AJ, Harding JJ, Dewar HM. Nutrition supplements and the eye. *Eye* 12: 127-133, 1998.
21. Chalon S, Delion-Vancassel S, Belzung C, Guilloteau D, Leguisquet AM, Besnard JC, Durand G. Dietary fish oil affects monoaminergic neurotransmission and behavior in rats. *J Nutr.* 128: 2512-2519, 1998.
22. Kaplan RJ, Greenwood CE. Dietary fatty acids and brain function. *Neurochem Res.* 23: 615-626, 1998.
23. Okuyama H. Minimum requirements of n-3 and n-6 essential fatty acids for the function of the central nervous system and for the prevention of chronic disease. *Proc Soc Exp Biol Med.* 200: 174-176, 1992.
24. Suzuki H, Park SJ, Tamura M, Ando S. Effect of the long-term feeding of dietary lipids on the learning ability, fatty acid composition of brain stem phospholipids and synaptic membrane fluidity in adult mice: a comparison of sardine oil diet with palm oil diet. *Mech Ageing Dev.* 16: 119-128, 1998.
25. Malcolm CA, McCulloch DL, Montgomery C, Shepherd A, Weaver LT. Maternal docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy and visual evoked potential development in term infants: a double blind, prospective, randomised trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 88(5): 383-390, 2003.
26. Björklund A, & Hökfelt T (Eds.), *Handbook of Chemical Neuroanatomy: Vol. 2. Classical Transmitters in the CNS, Part I.* (in press). Dopamine-containing systems in the CNS. Björklund A, & Lindvall O.
27. Shankar J, Andersen C and JK. Dopaminergic neurons. *Cancer and Aging at the Crossroads.* 37: 942-946, 2004.
28. www.childenvironment.org/conferences/earlyorigins0503/Cory-slechta.ppt
29. Bogerts B, Hantsch J and Herzer M. A morphometric study of the dopamine-containing cell groups in the mesencephalon of normals, Parkinson patients, and schizophrenics. *Biological Psychiatry.* 18(9): 951-969, 1983.
30. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *Journal of Neurochemistry* 59: 1609-1623, 1992.
31. Przedborski S. Pathogenesis of nigral cell death in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 11: 3-7, 2005.
32. Wooten GF. Neurochemistry and neuropharmacology of Parkinson's disease. Movement Watts RL, Koller WC, editors. Disorders Neurologic principles and practice. New York: McGraw-Hill Companies; 1997.p.1153-1160.
33. Meral H. İdyopatik Parkinson hastalığında REM uyku davranış bozukluğu ve kognitif durum. Uzmanlık Tezi, 2005.
34. Marsden CD. Function of the basal ganglia as revealed by cognitive and motor disorder in Parkinson's disease. *Can J Neurol Sci.* 11: 129-135, 1984.
35. Taner D. Fonksiyonel Nöroanatomî. Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim AŞ. METU baskı: 1998.s.170-179.
36. Andreas S. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP. *Cell and Tissue Research* 318: 215-224, 2004.

37. Fahn S. Parkinsonism. In: Rowland LP, editor. Merrit's Textbook of Neurology. 9th ed. Baltimore: Md. Lipincott Williams ft Wilkins; 1995.p.713-730.
38. Ross RAC, Jongen JCF, van der Velde EA. Clinical course of patients with idiopathic Parkinson's disease. *Mov Disord.* 11(3): 236-246, 1996.
39. Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* First of two parts. 339: 1044–1053, 1998.
40. Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* Second of two parts. 339: 1130–1143, 1998.
41. Adler C, Ahlskog JE. Current Clinical Practice: Parkinson's disease and Movement Disorders. New Jersey: 2000.
42. Schoenberg BS. Descriptive epidemiology of Parkinson's disease: disease distribution and hypothesis formulation. *Adv Neurol.* 45: 277-283, 1987.
43. Przedborski S, Jackson V. Mechanisms of MPTP toxicity. *Mov Disord.* 13(1): 35-38, 1998.
44. Koller WC, Wong GF, Lang A. Posttraumatic movement disorders: a review. *Mov Disord.* 4: 20-36, 1989.
45. Michele GD, Filla A, Volpe G, et al. Environmental and genetic risk factors in Parkinson's disease: A case control study in Southern Italy. *Mov Disord.* 11(1): 17-23, 1996.
46. Alan E, Guttmacher M, Collins FS. Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *New Eng J Med.* 348: 1356-1364, 2003.
47. Findley LJ, Koller WC. Handbook of tremor Disorders: Clinical features of tremor in extrapyramidal syndromes. New York: Marcel Dekker Inc Rajput AH; 1995.p.275-29.
48. Çakırmur R. Parkinson hastalığının epidemiyolojisi ve klinik özellikleri. *Türkiye klinikleri Nöroloji Dergisi* 15-17, 2003.
49. Hughes AJ, Daniel SE, Lees AJ. The clinical features of Parkinson's disease in 100 histologically proven cases. *Adv Neurol.* 60: 595-599, 1993.
50. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, et al. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psych.* 55: 181-184, 1992.
51. Marsden CD. Neuromelanin and Parkinson's disease. *J. Neural Transm. Suppl.* 19: 121–141, 1983.
52. Dunnett SB and Bjorklund A. Prospects for new restorative and neuroprotective treatments in Parkinson's disease. *Nature* 399: A32–39, 1999.
53. Jenner P and Olanow CW. Understanding cell death in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 44: 72–84, 1998.
54. Fearnley JM and Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain* 114: 2283–2301, 1991.
55. Pollanen MS, Dickson DW, Bergeron C. Pathology and biology of the Lewy Body. *J Neuropathol Exp Neurol.* 52: 183-191, 1993.
56. Hornykiewicz O and Kish SJ. Biochemical pathophysiology of Parkinson's disease. In: Yahr M and Bergmann KJ, editors. Parkinson's Disease. New York: Raven Pres; 1987.p.19–34.
57. Aarsland D, Tandberg E, Larsen JP and Cummings JL. Frequency of dementia in Parkinson disease. *Archives of Neurology.* 53: 538–542, 1996.
58. Tanner CM. Epidemiology of Parkinson's disease. *Neurol. Clin.* 10: 317–329, 1992.

59. Cohen G. Oxy-radical toxicity in catecholamine neurons. *Neurotoxicology* 5: 77–82, 1984.
60. Saudou F, Finkbeiner S, Devys D, and Greenberg ME. Huntingtin acts in the nucleus to induce apoptosis but death does not correlate with the formation of intranuclear inclusions. *Cell* 95: 55–66, 1998.
61. Cummings CJ, Reinstein E, Sun Y, Antalffy B, Jiang Y, Ciechanover A, Orr HT, Beaudet AL and Zoghbi HY. Mutation of the E6-AP ubiquitin ligase reduces nuclear inclusion frequency while accelerating polyglutamine-induced pathology in SCA1 mice. *Neuron* 24: 879–892, 1999.
62. Przedborski S, and Jackson-Lewis V. ROS and Parkinson's disease: a view to a kill. In: Poli G, Cadenas E and Packer L. editors. *Free Radicals in Brain Pathophysiology*. New York: Marcel Dekker, Inc; 2000.p.273–290.
63. Beckman KB and Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* 78: 547–581, 1998.
64. Giasson BI, Uryu K, Trojanowski JQ and Lee VM. Mutant and wild type human alpha-synucleins assemble into elongated filaments with distinct morphologies in vitro. *J. Biol. Chem.* 274: 7619–7622, 1999.
65. Uversky VN, Li J and Fink AL. Pesticides directly accelerate the rate of alpha-synuclein fibril formation: a possible factor in Parkinson's disease. *FEBS Lett.* 500: 105–108, 2001.
66. Manning-Bog AB, McCormack AL, Li J, Uversky VN, Fink AL and Di Monte DA. The herbicide paraquat causes up-regulation and aggregation of alpha-synuclein in mice: paraquat and alpha-synuclein. *J. Biol. Chem.* 277: 1641–1644, 2002.
67. Foley P, Riederer P. Influence of neurotoxins and oxidative stress on the onset and progression of Parkinson's disease. *J Neurol.* 247(2): II82-94, 2000.
68. Greenamyre JT, Sherer TB, Betarbet R and Panov AV. Complex I and Parkinson's disease. *IUBMB Life.* 52: 135–141, 2001.
69. Cohen G. Oxidative stress, mitochondrial respiration, and Parkinson's disease. *Ann. N Y Acad. Sci.* 899: 112–120, 2000.
70. Graham DG. Oxidative pathways for catecholamines in the genesis of neuromelanin and cytotoxic quinones. *Mol. Pharmacol.* 14: 633–643, 1978.
71. Gotz ME, König G, Riederer P, Youdim MB. Oxidative stress: free radical production in neural degeneration. *Pharmacol Ther.* 63: 37-122, 1994.
72. Spina MB, Cohen G. Dopamine turnover and glutathione oxidation: implications for Parkinson Disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 86: 1398-1400, 1989.
73. Orelan L, Gottfries CG. Brain and brain monoamine oxidase in aging and in dementia of Alzheimer's type. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 10: 533-540, 1986.
74. Sofic E, Paulus W, Jellinger K, Riederer P, Youdim MB. Selective increase of iron in substantia nigra zona compacta of parkinsonian brains. *J Neurochem.* 56(3): 978-82, 1991.
75. Jellinger KA, Kienzl E, Rumpelmaier G, Paulus W, Riederer P, Stachelberger H, Youdim MB and Ben-Shachar D. Iron and ferritin in substantia nigra in Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 60: 267–272, 1993.
76. Dexter DT, Carter CJ, Wells FR, Javoy-Agid F, Agid Y, Lees A, Jenner P, Marsden CD. Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. *J Neurochem.* 52(2): 381-9. 1989.

77. Dexter DT, Holley AE, Flitter WD, Slater TF, Wells FR, Daniel SE, Lees AJ, Jenner P, Marsden CD. Increased levels of lipid hydroperoxides in the parkinsonian substantia nigra: an HPLC and ESR study. *Mov Disord.* 9(1): 92-7, 1994.
78. Yoritaka A, Hattori N, Uchida K, Tanaka M, Stadtman ER and Mizuno Y Immunohistochemical detection of 4-hydroxynonenal protein adducts in Parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93(7): 2696-2701, 1996.
79. Alam ZI, Jenner A, Daniel SE, Lees AJ, Cairns N, Marsden CD, Jenner P and Halliwell B. Oxidative DNA Damage in the Parkinsonian Brain: An Apparent Selective Increase in 8-Hydroxyguanine Levels in Substantia Nigra. *J Neurochem.* 69: 1196-1203, 1997.
80. Dexter DT, Ward RJ, Wells FR, Daniel SE, Lees AJ, Peters TJ, Jenner P, Marsden CD. Alpha-tocopherol levels in brain are not altered in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 32(4): 591-593, 1992.
81. Ambani LM, Van Woert MH, Murphy S. Brain peroxidase and catalase in Parkinson disease. *Arch Neurol.* 32(2): 114-118, 1975.
82. Kish SJ, Morito J, Hornykiewicz O. Glutathione peroxidase activity in Parkinson's disease brain. *Neurosci Lett.* 58(3): 343-346, 1985.
83. Saggiu H, Cooksey J, Dexter D, Wells FR, Lees A, Jenner P, Marsden CD. A selective increase in particulate superoxide dismutase activity in parkinsonian substantia nigra. *J Neurochem.* 53(3): 692-697, 1989.
84. Yoshida E, Mokuno K, Aoki S, Takahashi A, Riku S, Murayama T, Yanagi T, Kato K. Cerebrospinal fluid levels of superoxide dismutases in neurological diseases detected by sensitive enzyme immunoassays. *J Neurol Sci.* 124(1): 25-31, 1994.
85. Di Monte DA, Chan P, Sandy MS. Glutathione in Parkinson's disease: a link between oxidative stress and mitochondrial damage? *Ann Neurol.* 32: 111-1115, 1992.
86. Riederer P, Sofic E, Rausch WD, Schmidt B, Reynolds GP, Jellinger K, Youdim MB. Transition metals, ferritin, glutathione, and ascorbic acid in parkinsonian brains. *J Neurochem.* 52(2): 515-520, 1989.
87. Sofic E, Lange KW, Jellinger K and Riederer P. Reduced and oxidized glutathione in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 142(2): 128-30, 1992.
88. Burns RS, Chiueh CC, Markey SP, Ebert MH, Jacobowitz DM, Kopin IJ. A primate model of parkinsonism: selective destruction of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 80(14): 4546-4550, 1983.
89. Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science.* 219(4587): 979-980, 1983.
90. Cleeter MW, Cooper JM, Schapira AH. Irreversible inhibition of mitochondrial complex I by 1-methyl-4-phenylpyridinium: evidence for free radical involvement. *J Neurochem.* 58(2): 786-789, 1992.
91. Singer TP, Castagnoli N Jr, Ramsay RR, Trevor AJ. Biochemical events in the development of parkinsonism induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *J Neurochem.* 49(1): 1-8, 1987.

92. Zhang Y, Dawson VL and Dawson TM. Oxidative Stress and Genetics in the Pathogenesis of Parkinson's Disease *Neurobiology of Disease*. 7(4): 240-250, 2000.
93. Forno LS, DeLanney LE, Irwin I and Langston JW. Similarities and differences between MPTP-induced parkinsonism and Parkinson's disease. Neuropathologic considerations. *Adv. Neurol.* 60: 600–608, 1993.
94. Irwin I, DeLanney LE and Langston JW. MPTP and aging: Studies in the C57BL/6 mouse. *Adv. Neurol.* 60: 197–206, 1993.
95. Ovadia A, Zhang Z and Gash DM. Increased susceptibility to MPTP toxicity in middle-aged rhesus monkeys. *Neurobiol. Aging*. 16: 931–937, 1995.
96. Davis GC, Williams AC, Markey SP, Ebert MH, Caine ED, Reichert CM and Kopin IJ. Chronic parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogs. *Psychiatry Res.* 1: 249–254, 1979.
97. Langston JW, Forno LS, Tetrud J, Reeves AG, Kaplan JA and Karluk D. Evidence of active nerve cell degeneration in the substantia nigra of humans years after 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine exposure. *Ann. Neurol.* 46: 598–605, 1999.
98. Moratalla R, Quinn, B, DeLanney LE, Irwin I, Langston JW and Graybiel AM. Differential vulnerability of primate caudate-putamen and striosome-matrix dopamine systems to the neurotoxic effects of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 3859–3863, 1992.
99. Sirinathsinghji DJ, Kupsch A, Mayer E, Zivin M, Pufal D and Oertel WH. Cellular localization of tyrosine hydroxylase mRNA and cholecystokinin mRNA-containing cells in the ventral mesencephalon of the common marmoset: effects of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 12: 267–274, 1992.
100. Varastet M, Riche D, Maziere M and Hantraye P. Chronic MPTP treatment reproduces in baboons the differential vulnerability of mesencephalic dopaminergic neurons observed in Parkinson's disease. *Neuroscience* 63: 47–56, 1994.
101. Seniuk NA, Tatton WG and Greenwood CE. Dose-dependent destruction of the coeruleus-cortical and nigral-striatal projections by MPTP. *Brain Res.* 527: 7–20, 1990.
102. Muthane U, Ramsay KA, Jiang H, Jackson-Lewis V, Donaldson D, Fernando S, Ferreira M and Przedborski S. Differences in nigral neuron number and sensitivity to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in C57/bl and CD-1mice. *Exp. Neurol.* 126: 195–204. 1994.
103. Hirsch E, Graybiel AM and Agid YA. Melanized dopaminergic neurons are differentially susceptible to degeneration in Parkinson's disease. *Nature* 334: 345–348, 1988.
104. Herrero MT, Hirsch EC, Kastner A, Ruberg M, Luquin MR, Laguna J, Javoy-Agid F, Obeso JA and Agid Y. Does neuromelanin contribute to the vulnerability of catecholaminergic neurons in monkeys intoxicated with MPTP. *Neuroscience* 56: 499–511, 1993.
105. Zecca L, Tampellini D, Gerlach M, Riederer P, Fariello RG and Sulzer D. Substantia nigra neuromelanin: structure, synthesis, and molecular behaviour. *Mol. Pathol.* 54: 414–418, 2001.
106. <http://cellbiology.med.unsw.edu.au/units/science/project2004/PDv6.ppt>

107. Markey SP, Johannessen JN, Chiueh CC, Burns RS and Herkenham MA. Intraneuronal generation of a pyridinium metabolite may cause drug-induced parkinsonism. *Nature* 311: 464–467, 1984.
108. Javitch JA, D'Amato RJ, Strittmatter SM and Snyder SH. Parkinsonism-inducing neurotoxin, N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine: uptake of the metabolite N-methyl-4-phenylpyridinium by dopamine neurons explain selective toxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 82: 2173–2177, 1985.
109. Mayer RA, Kindt MV and Heikkila RE. Prevention of the nigrostriatal toxicity of 1-methyl-4-phenyl-1, 2,3,6-tetrahydropyridine by inhibitors of 3,4-dihydroxyphenylethylamine transport. *J. Neurochem.* 47: 1073–1079, 1986.
110. Bezard E, Gross CE, Fournier MC, Dovero S, Bloch B and Jaber M. Absence of MPTP-induced neuronal death in mice lacking the dopamine transporter. *Exp. Neurol.* 155: 268–273, 1999.
111. Forno LS. Neuropathology of Parkinson's disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 55: 259–272, 1996.
112. Liu Y, Roghani A and Edwards RH. Gene transfer of a reserpine-sensitive mechanism of resistance to N-methyl-4-phenylpyridinium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 9074–9078, 1992.
113. Ramsay RR, Singer TP. Energy-dependent uptake of N-methyl-4-phenylpyridinium, the neurotoxic metabolite of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, by mitochondria. *J Biol Chem.* 261(17): 7585–7, 1986.
114. Klaidman LK, Adams Jr, JD, Leung AC, Kim SS and Cadenas E. Redox cycling of MPP⁺: Evidence for a new mechanism involving hydride transfer with xanthine oxidase, aldehyde dehydrogenase, and lipoamide dehydrogenase. *Free Radic. Biol. Med.* 15: 169–179, 1993.
115. Takahashi N, Miner LL, Sora I, Ujike H, Revay R, Kostic V, Jackson-Lewis V, Przedborski S and Uhl GR. VMAT2 knockout mice: heterozygotes display reduced amphetamine-conditioned reward, enhanced amphetamine locomotion, and enhanced MPTP toxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 9938–9943, 1997.
116. Nicklas WJ, Vyas I and Heikkila RE. Inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by MPP⁺, a metabolite of the neurotoxin MPTP. *Life Sci.* 36: 2503–2508, 1985.
117. Smeyne RJ, Jackson-Lewis V. The MPTP model of Parkinson's disease. *Mol Brain Res.* 134: 57–66, 2005.
118. Chan P, DeLanney LE, Irwin I, Langston JW and Di Monte D. Rapid ATP loss caused by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in mouse brain. *J. Neurochem.* 57: 348–351, 1991.
119. Fabre E, Monserrat J, Herrero A, Barja G and Leret ML. Effect of MPTP on brain mitochondrial H₂O₂ and ATP production and on dopamine and DOPAC in the striatum. *J. Physiol. Biochem.* 55: 325–331, 1999.
120. Chan P, DeLanney LE, Irwin I, Langston JW and Di Monte D. MPTP-induced ATP loss in mouse brain, *Ann NY Acad Sci* 648: 306–308, 1992.
121. Asanuma M, Miyazaki I, Diaz-Corrales FJ, Ogawa N. Quinone formation as dopaminergic neuron-specific oxidative stress in the pathogenesis of sporadic Parkinson's disease and neurotoxin-induced parkinsonism. *Acta Med Okayama.* 58 (5): 221–233, 2004.
122. Hasegawa E, Takeshige K, Oishi T, Murai Y and Minakami S. 1-Methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺) induces NADH-dependent superoxide formation and

- enhances NADH-dependent lipid peroxidation in bovine heart submitochondrial particles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 170: 1049–1055, 1990.
123. Hasegawa E, Kang D, Sakamoto K, Mitsumoto A, Nagano T, Minakami S and Takeshige K. A dual effect of 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺)-analogs on the respiratory chain of bovine heart mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* 337: 69–74, 1997.
 124. Przedborski S, Kostic V, Jackson-Lewis V, Naini AB, Simonetti S, Fahn S, Carlson E, Epstein CJ and Cadet JL. Transgenic mice with increased Cu/Zn-superoxide dismutase activity are resistant to *N*-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity. *J. Neurosci.* 12: 1658–1667, 1992.
 125. Beckman JS. Peroxynitrite versus hydroxyl radical: The role of nitric oxide in superoxide-dependent cerebral injury. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 738: 69–75, 1994.
 126. Crow JP and Beckman JS. The role of peroxynitrite in nitric oxide-mediated toxicity. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 196: 57–73, 1995.
 127. Dehmer T, Lindenau J, Haid S, Dichgans J and Schulz JB. Deficiency of inducible nitric oxide synthase protects against MPTP toxicity *in vivo* [In Process Citation]. *J. Neurochem.* 74: 2213–2216, 2000.
 128. GT Liberatore, Jackson-Lewis V, Vukosavic S, Mandir AS, Vila M, McAuliffe WG, Dawson VL, Dawson TM and Przedborski S. Inducible nitric oxide synthase stimulates dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson disease. *Nat. Med.* 5: 1403–1409, 1999.
 129. Johnson Jr RG. Accumulation of biological amines into chromaffin granules: a model for hormone and neurotransmitter transport. *Physiol. Rev.* 68: 232–307, 1988.
 130. Lotharius J and O'Malley KL. The parkinsonism-inducing drug 1-methyl-4-phenylpyridinium triggers intracellular dopamine oxidation. A novel mechanism of toxicity, *J Biol Chem.* 275: 38581–38588. 2000.
 131. Sulzer D, Bogulavsky J, Larsen KE, Behr G, Karatekin E, Kleinman MH, Turro N, Krantz D, Edwards RH, Greene LA and Zecca L. Neuromelanin biosynthesis is driven by excess cytosolic catecholamines not accumulated by synaptic vesicles. *Proc Natl Acad Sci USA.* 97: 11869–11874, 2000.
 132. Jackson-Lewis V, Jakowec M, Burke RE and Przedborski S. Time course and morphology of dopaminergic neuronal death caused by the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Neurodegeneration.* 4: 257–269, 1995.
 133. Jackson-Lewis M, Vukosavic V, Djaldetti S, Liberatore R, Offen G, Korsmeyer D, Przedborski SJ. Bax ablation prevents dopaminergic neurodegeneration in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 2837–2842, 2001.
 134. Tatton NA and Kish SJ. *In situ* detection of apoptotic nuclei in the substantia nigra compacta of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated mice using terminal deoxynucleotidyl transferase labelling and acridine orange staining. *Neuroscience* 77: 1037–1048, 1997.
 135. Vila M, Vukosavic S, Jackson-Lewis V, Neystat M, Jakowec M and Przedborski S. Alpha-synuclein up-regulation in substantia nigra dopaminergic neurons following administration of the parkinsonian toxin MPTP. *J. Neurochem.* 74: 721–729, 2000.

136. Chan P, Tanner CM, Jiang X and Langston JW. Failure to find the α -synuclein gene missense mutation (G209A) in 100 patients with younger onset Parkinson's disease. *Neurology* 50: 513–514, 1998.
137. Dauer W, Kholodilov N, Vila M, Trillat AC, Goodchild R, Larsen KE, Staal R, Tieu K, Schmitz Y, Yuan CA et al. Resistance of alpha-synuclein null mice to the parkinsonian neurotoxin MPTP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99: 14524–14529, 2002.
138. Xu J, Kao SY, Lee FJ, Song W, Jin LW and Yankner BA. Dopamine-dependent neurotoxicity of alpha-synuclein: a mechanism for selective neurodegeneration in Parkinson disease. *Nat. Med.* 8: 600–606, 2002.
139. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev.* 74(1): 139-162, 1994.
140. Buettner GR, Schafer FQ. Free radicals, oxidants, and antioxidants. *Teratology* 62(4): 234, 2000.
141. Commoner B, Townsend J, Pake GE. Free radicals in biological materials. *Nature* 174(4432): 689-691, 1954.
142. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen radicals and the nervous system. *Trends Neurosci.* 6: 22-26, 1985.
143. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 49(3): 481-493, 1993.
144. Kusterer K, Pihan G, Szabo S. Role of lipid peroxidation in gastric mucosal lesions induced by HCl, NaOH or ischemia. *Am J Physiol.* 252(15): 811-816, 1987.
145. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem.* 244(22): 6049-6055, 1969.
146. Andersen JK. Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? *Nat Med.* 10: 18-25, 2004.
147. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkiler. 1995.s.85-91.
148. Curnatte JT and Babior BM. Chronic granulomatous disease. *Adv. Hum. Genet.* 16: 229–297, 1987.
149. Babior BM, Lambeth JD and Nauseef W. The neutrophil NADPH oxidase. *Arch. Biochem. Biophys.* 397 2: 342–344, 2002.
150. Hartz JW, Deutsch HF. Subunit structure of human erythrocyte superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 247: 7043-7050, 1972.
151. Fridovich I. Superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem.* 44: 147-59, 1975.
152. Fong KL, McCay PB, Poyer JL. Evidence for superoxide-dependent reduction of Fe³⁺ and its role in enzyme-generated hydroxyl radical formation. *Chem Biol Interact.* 15(1): 77-89, 1976.
153. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit. Care Med.* 21(9): 1376-1386, 1993.
154. Park JL, Lucchesi BR. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg.* 689: 1905-1912, 1999.
155. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as a biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 41(12):1819-28, 1995.
156. Galle J, Wanner C. Oxidative stress and vascular injury--relevant for atherogenesis in uraemic patients? *Nephrol Dial Transplant.* 12(12): 2480-3, 1997.

157. Chiu D, Kuypers F, Lubin B. Lipid peroxidation in human red cells. *Semin Hematol.* 26: 257-276, 1989.
158. Halliwell B and Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 3th ed. Oxford: Oxford University Pres; 1999.
159. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase. *Proc. Assoc. Am. Physicians* 111(5): 383–389, 1999.
160. Calabrese V, Bates TE, Stella AM. NO synthase and NO-dependent signal pathways in brain aging and neurodegenerative disorders: the role of oxidant/antioxidant balance. *Neurochem. Res.* 25: 1315-1341, 2000.
161. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA and Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87: 1620–1624, 1990.
162. Chiueh CC. Neuroprotective properties of nitric oxide. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 890: 301-311, 1999.
163. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol.* 11: 298-300, 1956.
164. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J.* 324(1): 1-18, 1997.
165. Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW, Degan P, Ames BN. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 87(12): 4533-4537, 1990.
166. Kannan K, Jain SK. Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology* 7: 153–163, 2000.
167. Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological system. *Trends Biochem Sci.* 15(4): 129-35, 1990.
168. Frank L, Massaro D. Oxygen Toxicity. *Am. J. Med.* 69: 117-26, 1980.
169. Garner MH, Spector A. Selective oxidation of cysteine and methionine in normal and senile cataractous lenses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 77(3): 1274-1277, 1980.
170. Winyard P, Lunec J, Brailsford S, Blake D. Action of free radical generating systems upon the biological and immunological properties of caeruloplasmin. *Int J Biochem.* 16(12): 1273-1278, 1984.
171. Çakırtay U, Kayalı R. The clinical importance of protein oxidation. *Cerrahpaşa J Med.* 35: 140-149, 2004.
172. Ganong WF. Review of Medical Physiology: Vision (Section 3). 1996.p.287-354
173. Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Pasini E, De Giuli F, Albertini A. Role of oxygen free radicals in ischemic and reperfused myocardium. *Am J Clin Nutr.* 53: 215-222, 1991.
174. Meng J, Sakata N, Imanaga Y, Tachikawa Y, Chihara J, Takebayashi S. Evidence for a link between glycoxidation and lipoperoxidation in patients with chronic renal failure. *Clin Nephrol.* 51(5):280-9, 1999.
175. Sagone AL, Greenwald J, Kraut EH, Bianchine J, Sing D. Glucose: a role as a free radical scavenger in biological systems. *J. Lab. Clin. Med.* 101: 97-104, 1983.
176. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol. Int.* 49(2): 91–102, 1999.

177. Amici M, Lupidi G, Angeletti M, Fioretti E and Eleuteri AM. Peroxynitrite-induced oxidation and its effects on isolated proteasomal systems. *Free Radic. Biol. Med.* 34 (8): 987–996, 2003.
178. Kohen R and Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol. Pathol.* 30 (6): 620–650, 2002.
179. Hassan HM, Fridovich L. Chemistry and biochemistry of superoxide dismutases. *Eur J Rheumatol. Inflamm.* 4(2): 160-172, 1981.
180. Kasai H, Nishimura S, Kurokawa Y, Hayashi Y. Oral administration of the renal carcinogen, potassium bromate, specifically produces 8-hydroxydeoxyguanosine in rat target organ DNA. *Carcinogenesis* 8(12): 1959-1961, 1987.
181. Floyd RA, West MS, KL, Eneff JE, Schneider PK, Wong DT, Hogsett T and WE. Conditions influencing yield and analysis of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in oxidatively damaged DNA. *Anal. Biochem.* 188: 155-158, 1990.
182. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 47(5): 412-426, 1982.
183. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med.* 91(3C): 14-22, 1991.
184. Betteridge J. What is oxidative stress? *Metabolism.* 49(2): 3-8, 2000.
185. Thomas CE, Aust SD. Rat liver microsomal NADPH-dependent release of iron from ferritin and lipid peroxidation. *J. Free. Radic. Biol. Med.* 1(4): 293-300, 1985.
186. Wendel A, Cikryt P. The level and half-life of glutathione in human plasma. *FEBS-Lett.* 120(2): 209-211, 1980.
187. Burk RF, Hill KE, Motley AK. Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. *J Nutr.* 133(5 Suppl 1): 1517-1520, 2003.
188. Whiting JC, Bhamre S, Tham DM, Cohen HJ Extracellular glutathione peroxidase is secreted basolaterally by human renal proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 283(1): 20-8, 2002.
189. Carlberg I, Mannervik B. Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. *J Biol Chem.* 250(14): 5475-5480, 1975.
190. Mates JM, Sanchez-Jimenez F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiological processes. *Front Biosci.* 4: 339-45, 1999.
191. Jernstrom B, Dock L, Martinez M. Metabolic activation of benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol and benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide to protein-binding products and the inhibitory effect of glutathione and cysteine. *Carcinogenesis* 5(2): 199-204, 1984.
192. Rice ME. Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the rat brain. *Trends Neurosci.* 23: 209–216, 2000.
193. Traber MG. Cellular and molecular mechanisms of oxidants and antioxidants. *Miner. Electrolyte Metab.* 23: 135-139, 1997.
194. Chan AC. Partners in defense, vitamin E and vitamin C. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 71(9): 725–731, 1993.
195. Handelman GJ. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition* 17(10): 818–822, 2001.
196. Rivett AJ. High molecular mass of intracellular proteases. *Biochem.J.* 263(3): 625-633, 1989.

197. Sayre LM, Smith MA, Perry G. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Curr. Med. Chem.* 8: 721–738, 2001.
198. Vander AJ, Sherman JA, Luciano DS. Human Physiology: The sensory systems 1994.p.249-257.
199. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Principles of neural science: Visual processing by the retina. 2000.p.507-522.
200. Guyton AC. Özel duyular. In: Çavuşoğlu H. editor. Tıbbi Fizyoloji. 2001.p.566-602.
201. www.uchc.edu/dsp/rodcone.html
202. Sokol S. Visually evoked potentials: theory, techniques and clinical applications. *Surv Ophthalmol.* 21(1): 18-44, 1976.
203. Dorfman LJ. Sensory evoked potentials: clinical applications in medicine. *Annu Rev Med.* 34: 473-489, 1983.
204. Mehta MC, Katsumi O, Wajima R, Hirose T. PVER amplitude check-size function curve in macular and optic nerve diseases. *Int Ophthalmol Clin.* 34(3): 305-309, 1994.
205. Halliday AM. Visually evoked responses in optic nevre disease. *Transactions of the ophthalmological society of United Kingdom.* 96: 372-376, 1976.
206. Otto D, Hudnell K, Boyes W, Janssen R, Dyer R. Electrophysiological measures of visual and auditory function as indices of neurotoxicity. *Toxicology.* 49(2-3): 205-218, 1988.
207. Hetzler BE, Boyes WK, Creason J, Dyer RS. Temperature dependent changes in visual evoked potentials of rats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 70: 137-154, 1988.
208. Ansari KA, Johnson A. Olfactory function in patients with Parkinson's disease. *J Chronic Dis.* 28(9): 493-497, 1975.
209. Berry M, Bannister LH, Standring SM. Nervous System. In: Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson MWJ, editors. Gray's Anatomy The Anatomical Basis of Medicine and Surgery. 38th ed. Great Britain: ELBS with Churchill Livingstone; 1995.p.1345-1346.
210. Djamgoz MB, Hankins MW, Hirano J, Archer SN. Neurobiology of retinal dopamine in relation to degenerative states of the tissue. *Vision Res.* 37(24): 3509-3529, 1997.
211. Nir I, Haque R, Iuvone PM. Diurnal metabolism of dopamine in the mouse retina. *Brain Res.* 870(1-2): 118-125, 2000.
212. Delgado MJ, Cespedes MV, De Pedro N, Alonso-Bedate M, Alonso-Gomez AL. Day/night variations of dopamine ocular content during *Xenopus laevis* ontogeny. *Neurosci Lett.* 300(3): 129-132, 2001.
213. Schmidt M, Humphrey M, Wässle H. Action and localization of acetylcholine in the cat retina. *J Neurophysiol* 58(5): 997-1015, 1987.
214. Harnois C, Di Paolo T. Decreased dopamine in the retinas of patients with Parkinson's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 31(11): 2473-2475, 1990.
215. Mayes PA. Lipidlerin fizyolojik önemi. In: Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW editors. Harper'in Biyokimyası. Başınç Kiabevi; 1993.p.171.
216. Songur A, Sarsilmaz M, Sogut S, Ozyurt B, Ozyurt H, Zararsiz I, Turkoglu AO. Hypothalamic superoxide dismutase, xanthine oxidase, nitric oxide, and malondialdehyde in rats fed with fish omega-3 fatty acids. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 28(4): 693-698, 2004.

217. Storlien LH, Higgins JA and Thomas TCI. Diet composition and insulin action in animal models. *Br. J. Nutr.* 83: 85–90, 2000.
218. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr.* 54(3): 438–463, 1991.
219. Ayerza R, Coates W. Dietary levels of chia: influence on hen weight, egg production and sensory quality, for two strains of hens. *Br Poult Sci.* 43(2): 283–290, 2002.
220. Martin DS, Loneragan PE, Boland B, Fogarty MP, Brady M, Horrobin DF, Campbell VA and Lynch MA. Apoptotic changes in the aged brain are triggered by interleukin-1beta-induced activation of p38 and reversed by treatment with eicosapentaenoic acid. *J. Biol. Chem.* 277: 34239–34246, 2002.
221. Loneragan PE, Martin DS, Horrobin DF and Lynch MA. Neuroprotective effect of eicosapentaenoic acid in hippocampus of rats exposed to gamma-irradiation. *J. Biol. Chem.* 277: 20804–20811, 2002.
222. Sarsilmaz M, Songur A, Ozyurt H, Kus I, Ozen OA, Ozyurt B, Sogut S, Akyol O. Potential role of dietary omega-3 essential fatty acids on some oxidant/antioxidant parameters in rats' corpus striatum. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 69(4): 253–259, 2003.
223. Horrobin DF, Manku MS, Hillman S and Glen IAM. Fatty acid levels in brains of schizophrenics and normal controls. *Biol. Psychiatry* 30: 795–805, 1991.
224. Yao JK, Leonard S and Reddy R. Membrane phospholipid abnormalities in postmortem brains from schizophrenic patients. *Schizophr. Res.* 42: 7–17, 2000.
225. Salem Jr N, Kim HY, Yergey JA. Health Effects of Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods. In: Simopolous, A.P., Kifer, R.R., Martin, R.E. editors. Docosahexaenoic acid: membrane function and metabolism. New York: Academic Pres; 1986.p.319–351.
226. SanGiovanni JP, Chew EY. The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Prog Retin Eye Res.* 24(1): 87–138, 2005.
227. Mantzioris E, Cleland LG and Gibson RA. Biochemical effects of a diet containing foods enriched with n-3 fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 72: 42–48, 2000.
228. Nelson GJ. Effects of dietary fatty acids on lipid metabolism. In: Chow KC, editors. Fatty Acids in Foods and their Health Implications. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 2000.p.481–516.
229. Breckenridge WC, Gombos G and Morgan IG. The lipid composition of adult rat brain synaptosomal membranes. *Biochim. Biophys. Act.* 266: 695–707, 1972.
230. Neill AR and Masters CJ. Metabolism of fatty acids by ovine spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 34: 279–287, 1973.
231. Wiegand RD and Anderson RE. Phospholipid molecular species of frog rod outer segment membranes. *Exp. Eye Res.* 37: 159–173, 1983.
232. Innis SM. Essential fatty acids in growth and development. *Prog. Lipid Res.* 30: 39–103, 1991.
233. Lauritzen L, Hansen HS, MH, Jorgensen and Michaelsen KF. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Prog. Lipid Res.* 40: 1–94, 2001.

234. Hamano H, Nabekura J, Nishikawa M and Ogawa T. Docosahexaenoic acid reduces GABA response in substantia nigra neuron of rat. *J. Neurophysiol.* 75: 1264–1270, 1996.
235. Horrocks LA, Farooqui AA. Docosahexaenoic acid in the diet: its importance in maintenance and restoration of neural membrane function. *Prostaglandin Leukotrien Essential Fatty Acids.* 70: 361-372, 2004.
236. Moore SA. Local synthesis and targeting of essential fatty acids at the cellular interface between blood and brain: a role for cerebral endothelium and astrocytes in the accretion of CNS docosahexaenoic acid. *World Rev. Nutr. Diet* 75: 128–133, 1994.
237. Zerouga M, Stillwell W, Stone J, Powner A, Dumaul AC and Jencki LJ. Phospholipid class as a determinant in docosahexaenoic acid's effect on tumor cell viability. *Anticancer Res.* 16: 2863–2868, 1996.
238. Stillwell W, Jencki LJ, Crump FT and Ehringer W. Effect of docosahexaenoic acid on mouse mitochondrial membrane properties. *Lipids* 32: 497–506, 1997.
239. Stillwell W, Wassall SR. Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid. *Chem Phys Lipids.* 126(1): 1-27, 2003.
240. Fernstrom JD. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on neuronal function. *Lipids* 34: 161–169, 1999.
241. Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL and Mostofsky DI. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol. Aging* 23: 843–853, 2002.
242. Hashimoto M, Shinozuka K, Gamoh S, Tanabe Y, Hossain MS, Kwon YM, Hata N, Misawa Y, Kunitomo M and Masumura S. The hypotensive effect of docosahexaenoic acid is associated with the enhanced release of ATP from the caudal artery of aged rats. *J. Nutr.* 129: 70–76, 1999.
243. Alexander-North LS, North JA, Kiminyo KP, Buettner GR and Spector AA. Polyunsaturated fatty acids increase lipid radical formation induced by oxidant stress in endothelial cells. *J. Lipid Res.* 35: 1773–1785, 1994.
244. Zimmer L, Delpal S, Guilloteau D, Aioun J, Durand G and Chalon S. Chronic n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency alters dopamine vesicle density in the rat frontal cortex. *Neurosci. Lett.* 284: 25–28, 2000.
245. Zimmer L, Delion-Vancassel S, Durand G, Guilloteau D, Bodard S, Besnard JC and Chalon S. Modification of dopamine neurotransmission in the nucleus accumbens of rats deficient in n-3 polyunsaturated fatty acids. *J. Lipid Res.* 41: 32–40, 2000.
246. Chalon S, Vancassel S, Zimmer L, Guilloteau D and Durand G. Polyunsaturated fatty acids and cerebral function: focus on monoaminergic neurotransmission. *Lipids* 36: 937–944, 2001.
247. Zimmer L, Vancassel S, Cantagrel S, Breton P, Delamanche S, Guilloteau D, Durand G and Chalon S. The dopamine mesocorticolimbic pathway is affected by deficiency in n-3 polyunsaturated fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 75: 662–667, 2002.
248. Jones JR, Arai T, Rapoport SI. Evidence for the involvement of docosahexaenoic acid in cholinergic stimulated signal transduction at the synapse. *Neurochem Res.* 22: 663-670, 1997.

249. Slater SJ, Kelly MB, Yeager MD, Larkin J, Ho C and Stubbs CD. Polyunsaturation in cell membranes and lipid bilayers and its effects on membrane proteins. *Lipids* 31: 189–192, 1996.
250. Nishikawa M, Kimura S and Akaike N. Facilitatory effect of docosahexaenoic acid on N-methyl-D-aspartate response in pyramidal neurones of rat cerebral cortex. *J. Physiol.* 475: 83–93, 1994.
251. Poling JS, Karanian JW, Salem Jr N and Vicini S. Time- and voltage-dependent block of delayed rectifier potassium channels by docosahexaenoic acid. *Mol. Pharmacol.* 47: 381–390, 1995.
252. Xiao YF and Li XY. Polyunsaturated fatty acids modify mouse hippocampal neuronal excitability during excitotoxic or convulsant stimulation. *Brain Res.* 846: 112–121, 1999.
253. Calder PC. Dietary fatty acids and the immune system. *Nutr. Rev.* 56: 70–83, 1998.
254. Calder PC and Grimble RF. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Eur. J. Clin. Nutr.* 56: 14–19, 2002.
255. Corey EJ, Shih C and Cashman JR. Docosahexaenoic acid is a strong inhibitor of prostaglandin but not leukotriene biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 3581–3584, 1983.
256. James MJ, Gibson RA and Cleland LG. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *Am. J. Clin. Nutr.* 71: 343–348, 2000.
257. Chen C and Tonegawa S. Molecular genetic analysis of synaptic plasticity, activity-dependent neural development, learning, and memory in the mammalian brain. *Annu. Rev. Neurosci.* 20: 157–184, 1997.
258. McGahon BM, Martin DSD, Horrobin DF and Lynch MA. Age-related changes in synaptic function: analysis of the effect of dietary supplementation with omega-3 fatty acids. *Neuroscience* 94: 305–314, 1999.
259. Fujita S, Ikegaya Y, Nishikawa M, Nishiyama N, Matsuki N. Docosahexaenoic acid improves long-term potentiation attenuated by phospholipase A(2) inhibitor in rat hippocampal slices. *Br J Pharmacol.* 132(7): 1417–22, 2001.
260. Fujimoto K, Yao K, Miyazaki T, Hirano H, Nishikawa M, Kimura S, Murayama K and Nonaka M. The effect of dietary docosahexaenoate on the learning ability of rats. In: R.K. Chandra, editor. *Health Effects of Fish and Fish Oils*, The Netherlands: ARTS Biomedical; 1989.p.275–284.
261. Horrocks LA and Yeo YK. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). *Pharmacol. Res.* 40: 211–225, 1999.
262. Barcelo-Coblijn G, Hoggies E, Kitajka K, Puskas LG, Zvara A, Hackler L, Nyakas C, Penke Z and Farkas T. Modification by docosahexaenoic acid of age-induced alterations in gene expression and molecular composition of rat brain phospholipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 11321–11326, 2003.
263. Söderberg M, Edlund C, Kristensson K and Dallner G. Fatty acid composition of brain phospholipids in aging and in Alzheimer's disease. *Lipids* 26: 421–425, 1991.
264. Martínez M, Vázquez E, García-Silva MT, Manzanares J, Bertran JM, Castelló F and Mougán I. Therapeutic effects of docosahexaenoic acid ethyl ester in patients with generalized peroxisomal disorders. *Am. J. Clin. Nutr.* 71: 376–385, 2000.

265. Hibbeln JR and Salem N Jr. Dietary polyunsaturated fatty acids and depression: when cholesterol does not satisfy. *Am. J. Clin. Nutr.* 62: 1–9, 1995.
266. Burgess JR, Stevens L, Zhang W and Peck L. Long-chain polyunsaturated fatty acids in children with attention-deficit hyperactivity disorder. *Am. J. Clin. Nutr.* 71: 327–330, 2000.
267. Nordvik I, Myhr KM, Nyland H and Bjerve KS. Effect of dietary advice and n-3 supplementation in newly diagnosed MS patients. *Acta Neurol. Scand.* 102: 143–149, 2000.
268. Mahadik SP, Mukherjee S, Horrobin DF, Jenkins K, Correnti EE and Scheffer RE. Plasma membrane phospholipid fatty acid composition of cultured skin fibroblasts from schizophrenic patients: comparison with bipolar patients and normal subjects. *Psychiatry Res.* 63: 133–142, 1996.
269. Okada M, Amamoto T, Tomonaga M, Kawachi A, Yazawa K, Mine K and Fujiwara M. The chronic administration of docosahexaenoic acid reduces the spatial cognitive deficit following transient forebrain ischemia in rats. *Neuroscience* 71: 17–25, 1996.
270. Terano T, Fujishiro S, Ban T, Yamamoto K, Tanaka T, Noguchi Y, Tamura Y, Yazawa K and Hirayama T. Docosahexaenoic acid supplementation improves the moderately severe dementia from thrombotic cerebrovascular diseases. *Lipids* 34: 345–346, 1999.
271. Hossain MS, Hashimoto M and Masumura S. Influence of docosahexaenoic acid on cerebral lipid peroxide level in aged rats with and without hypercholesterolemia. *Neurosci. Lett.* 244: 157–160, 1998.
272. Kalmijn S, Feskens EJM, Launer LJ and Kromhout D. Polyunsaturated fatty acids, antioxidants, and cognitive function in very old men. *Am. J. Epidemiol.* 145: 33–41, 1997.
273. Hossain MS, Hashimoto M, Gamoh S and Masumura S. Antioxidative effects of docosahexaenoic acid in the cerebrum versus cerebellum and brainstem of aged hypercholesterolemic rats. *J. Neurochem.* 72: 1133–1138, 1999.
274. Friedland RP. Fish consumption and the risk of Alzheimer disease: is it time to make dietary recommendations? *Arch. Neurol.* 60: 923–924, 2003.
275. Hamazaki T, Sawazaki S, Itomura M, Asaoka E, Nagao Y, Nishimura N, Yazawa K, Kuwamori T and Kobayashi M. The effect of docosahexaenoic acid on aggression in young adults—a placebo-controlled double-blind study. *J. Clin. Invest.* 97: 1129–1133, 1996.
276. Martínez M. Docosahexaenoic acid therapy in docosahexaenoic acid-deficient patients with disorders of peroxisomal biogenesis. *Lipids* 31: 145–152, 1996.
277. Fliesler SJ, Anderson RE. Chemistry and metabolism of lipids in the vertebrate retina. *Prog Lipid Res.* 22(2): 79–131, 1983.
278. Clandinin MT, Jumpsen J, Suh M. Relationship between fatty acid accretion, membrane composition, and biologic functions. *J Pediatr.* 125(5 Pt 2): 25–32, 1994.
279. Litman BJ, Mitchell DC. A role for phospholipid polyunsaturation in modulating membrane protein function. *Lipids* 31: 193–7, 1996.
280. Anderson RE, Landis DJ, Dudley PA. Essential fatty acid deficiency and renewal of rod outer segments in the albino rat. *Invest Ophthalmol.* 15(3): 232–236, 1976.

281. Uauy R, Mena P, Rojas C. Essential fatty acids in early life: structural and functional role. *Proc Nutr Soc.* 59(1): 3-15, 2000.
282. Uauy R, Hoffman DR, Peirano P, Birch DG, Birch EE. Essential fatty acids in visual and brain development. *Lipids* 36(9): 885-895, 2001.
283. Connor WE, Neuringer M, Lin DS. Dietary effects on brain fatty acid composition: the reversibility of n-3 fatty acid deficiency and turnover of docosahexaenoic acid in the brain, erythrocytes, and plasma of rhesus monkeys. *J Lipid Res.* 31(2): 237-247, 1990.
284. Yamamoto N, Okaniwa Y, Mori S, Nomura M, Okuyama H. Effects of a high-linoleate and a high-alpha-linolenate diet on the learning ability of aged rats. Evidence against an autoxidation-related lipid peroxide theory of aging. *J Gerontol.* 46(1): 17-22, 1991.
285. Simopoulos AP. Summary of the NATO advanced research workshop on dietary omega 3 and omega 6 fatty acids: biological effects and nutritional essentiality. *J Nutr.* 119(4): 521-528, 1989.
286. Date I, Felten DL, Felten SY. Long-term effect of MPTP in the mouse brain in relation to aging: neurochemical and immunocytochemical analysis. *Brain Res.* 519(1-2): 266-276, 1990.
287. Beal MF, Matthews RT, Tieleman A, Shults CW. Coenzyme Q10 attenuates the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine (MPTP) induced loss of striatal dopamine and dopaminergic axons in aged mice. *Brain Res.* 783(1): 109-114, 1998.
288. Peachey NS, Ball SL. Electrophysiological analysis of visual function in mutant mice. *Doc Ophthalmol.* 107(1): 13-36, 2003.
289. Strain GM, Tedford BL. Flash and pattern reversal visual evoked potentials in C57BL/6J and B6CBAF1/J mice. *Brain Res Bull.* 32(1): 57-63, 1993.
290. Kobayashi T, Araki T, Itoyama Y, Takeshita M, Ohta T and Oshima Y. Effects of -DOPA and bromocriptine on haloperidol-induced motor deficits in mice. *Life Sci.* 61: 2529-2538, 1997.
291. Ogawa N, Mizukawa K, Hirose Y, Kajita S, Ohara S and Watanabe Y. MPTP-induced parkinsonian model in mice: biochemistry, pharmacology and behavior. *Eur. Neurol.* 26: 16-23, 1987.
292. Malstrom B, Andreasson L and Reinhammer B. The Enzymes. In: Boyer P, editor. New York: XIIB Academic Pres; 1975.p.533.
293. Johansson LH, Borg LA. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Anal Biochem.* 174(1): 331-336, 1988.
294. Mannervik B. Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 113: 490-495, 1985.
295. Wasowicz W, Jean N, Peratz A. Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum. Importance of extraction pH and influence of sample, preservation and storage. *Clin. Chem.* 39(12): 2522-2526, 1993.
296. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254, 1976.
297. Uzbay İT. Beyin ve Nöropsikoloji: Temel ve Klinik Bilimler. Parkinson hastalığı, farmakolojik tedavisi ve ilaç geliştirmeye yönelik deneysel Parkinson modelleri. 2003.

298. Blum D, Torch S, Lambeng N, Nissou M, Benabid AL, Sadoul R, Verna JM. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 65(2): 135-72, 2001.
299. Emborg ME. Evaluation of animal models of Parkinson's disease for neuroprotective strategies. *J Neu Meth.* 139: 121-143, 2004.
300. Schmidt N, Ferger B. Neurochemical findings in the MPTP model of Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 108(11): 1263-82, 2001.
301. Przedborski S, Jackson-Lewis V, Naini AB, Jakowec M, Petzinger G, Miller R, Akram M. The parkinsonian toxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP): a technical review of its utility and safety. *J Neurochem.* 76(5): 1265-74, 2001.
302. Kuhn K, Wellen J, Link N, Maskri L, Lubbert H, Stichel CC. The mouse MPTP model: gene expression changes in dopaminergic neurons. *Eur J Neurosci.* 17(1): 1-12, 2003.
303. Giovanni A, Sieber BA, Heikkila RE, Sonsalla PK. Studies on species sensitivity to the dopaminergic neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. Part 1: Systemic administration. *J Pharmacol Exp Ther.* 270(3): 1000-7, 1994.
304. Nenseter MS, Drevon CA. Dietary polyunsaturates and peroxidation of low density lipoprotein. *Curr Opin Lipidol.* 7: 8-13, 1996.
305. Song JH, Miyazawa T. Enhanced level of n-3 fatty acid in membrane phospholipids induces lipid peroxidation in rats fed dietary docosahexaenoic acid oil. *Atherosclerosis* 155: 9-18, 2001.
306. Roig-Perez S, Guardiola F, Moreto M, Ferrer R. Lipid peroxidation induced by DHA enrichment modifies paracellular permeability in Caco-2 cells: protective role of taurine. *J Lipid Res.* 45: 1418-1428, 2004.
307. Mori TA, Woodman RJ, Burke V, Puddey IB, Croft KD & Beilin LJ. Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on oxidative stress and inflammatory markers in treated-hypertensive type 2 diabetic subjects. *Free Radical Bio Med.* 35: 772-781, 2003.
308. Sarsilmaz M, Songur A, Ozyurt H et al. Potential role of dietary -3 essential fatty acids on some oxidant/antioxidant parameters in rats' corpus striatum. *Prostag Leukotr Ess.* 69: 253-259, 2003.
309. Kremer JM, Lawrence DA, Jubiz W, DiGiacomo R, Rynes R, Bartholomew LE, Sherman M. Dietary fish oil and olive oil supplementation in patients with rheumatoid arthritis. Clinical and immunologic effects. *Arthritis Rheum.* 33(6): 810-20, 1990.
310. M.J. Kupersmith, E. Shakin, I.M. Siegel and A. Lieberman. Visual system abnormalities in Parkinson's disease. *Arch. Neurol.* 39: 284-286, 1982.
311. Muthane UB, Satishchandra P, Subhash MN. Visual and auditory evoked potentials in early onset Parkinson's disease and their relationship to cerebrospinal fluid monoamine metabolites. *Mov Disord.* 8(3):344-8, 1993.
312. Hacioglu G, Agar A, Yargicoglu P. The role of docosahexaenoic acid on visual evoked potentials in one kidney-one clip hypertension. *Acta Ophthalmol Scan.* 84: 488-494, 2006.
313. S. Nightingale, K.W. Mitchell and J.W. Howe. Visual evoked cortical potentials and pattern electroretinograms in Parkinson's disease and control subjects. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 49: 1280-1287, 1986.

314. Floyd RA, Carney JM. Free radical damage to protein and DNA: mechanisms involved and relevant observations on brain undergoing oxidative stress. *Ann Neurol.* 32: 22-7, 1992.
315. Parboosingh JS, Rousseau M, Rogan F, Amit Z, Chertkow H, Johnson WG, Manganaro F, Schipper HN, Curran TJ, Stoessl J, et al. Absence of mutations in superoxide dismutase and catalase genes in patients with Parkinson's disease. *Arch Neurol.* 52(12): 1160-3, 1995.
316. Hodgson EK, Fridovich I. The interaction of bovine erythrocyte superoxide dismutase with hydrogen peroxide: inactivation of the enzyme. *Biochemistry* 14(24): 5294-9, 1975.
317. Ihara Y, Chuda M, Kuroda S, Hayabara T. Hydroxyl radical and superoxide dismutase in blood of patients with Parkinson's disease: relationship to clinical data. *J Neurol Sci.* 170(2): 90-5, 1999.
318. Takahata K, Shimazu S, Katsuki H, Yoneda F, Akaike A. Effects of selegiline on antioxidant systems in the nigrostriatum in rat. *J Neural Transm.* 113(2): 151-8, 2006.
319. Torsdottir G, Kristinsson J, Sveinbjornsdottir S, Snaedal J, Johannesson T. Copper, ceruloplasmin, superoxide dismutase and iron parameters in Parkinson's disease. *Pharmacol Toxicol.* 85(5): 239-43, 1999.
320. Sian J, Dexter DT, Lees AJ, Daniel S, Jenner P, Marsden CD. Glutathione-related enzymes in brain in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 36(3): 356-61, 1994.
321. Jenner P, Dexter DT, Sian J, Schapira AH, Marsden CD. Oxidative stress as a cause of nigral cell death in Parkinson's disease and incidental Lewy body disease. The Royal Kings and Queens Parkinson's Disease Research Group. *Ann Neurol.* 32: 82-7, 1992.
322. Cassarino DS, Fall CP, Swerdlow RH, Smith TS, Halvorsen EM, Miller SW, Parks JP, Parker WD Jr, Bennett JP Jr. Elevated reactive oxygen species and antioxidant enzyme activities in animal and cellular models of Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta.* 1362(1): 77-86, 1997.
323. Gaunt GL, de Duve C. Subcellular distribution of D-amino acid oxidase and catalase in rat brain. *J Neurochem.* 26(4): 749-59, 1976.
324. Agar A, Kucukatay V, Yargicoglu P, Aktekin B, Kipmen-Korgun S, Gumuslu D, Apaydin C. The effect of sulfur dioxide inhalation on visual evoked potentials, antioxidant status, and lipid peroxidation in alloxan-induced diabetic rats. *Arch Environ Contam Toxicol.* 39(2): 257-64, 2000.
325. Ramaprasad TR, Baskaran V, Sambaiah K, Lokesh BR. Supplementation and delivery of n-3 fatty acids through spray-dried milk reduces serum and liver lipids in rats. *Lipids* 39: 627-632, 2004.
326. Morel DW, Chisolm GM. Antioxidant treatment of diabetic rats inhibits lipoprotein oxidation and cytotoxicity. *J Lipid Res* 30: 1827-1834, 1989.
327. Choi-Kwon S, Park KA, Lee HJ, Park MS, Lee JH, Jeon SE, Choe MA, Park KC. Temporal changes in cerebral antioxidant enzyme activities after ischemia and reperfusion in a rat focal brain ischemia model: effect of dietary fish oil. *Brain Res Dev Brain Res.* 152(1): 11-8, 2004.
328. Chen LC, Boissonneault G, Hayek MG, Chow CK. Dietary fat effects on hepatic lipid peroxidation and enzymes of H₂O₂ metabolism and NADPH generation. *Lipids* 28: 657-662, 1993.

329. Froyland L, Madsen L, Vaagenes H, Totland GK, Auwerx J, Kryvi H, Staels B, Berge RK. Mitochondrion is the principal target for nutritional and pharmacological control of triglyceride metabolism. *J Lipid Res* 39: 583–593, 1998.
330. Ramaprasad TR, Baskaran V, Krishnakantha TP, Lokesh BR. Modulation of antioxidant enzyme activities, platelet aggregation and serum prostaglandins in rats fed spray-dried milk containing n-3 fatty acid. *Mol Cell Biochem.* 277(1-2): 19-26, 2005.
331. Lemaitre D, Vericel E, Polette A, Lagarde M. Effects of fatty acids on human platelet glutathione peroxidase: possible role of oxidative stress. *Biochem Pharmacol.* 53: 479–86, 1997.
332. Avula CP, Fernandes G. Modulation of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in murine salivary gland by dietary fatty acid ethyl esters. *Life Sci.* 65: 2373–83, 1999.
333. Delton-Vandenbroucke I, Vericel E, Januel C, Carreras M, Lecomte M, Lagarde M. Dual regulation of glutathione peroxidase by docosahexaenoic acid in endothelial cells depending on concentration and vascular bed origin. *Free Radic Biol Med.* 30: 895–904, 2001.
334. Venkatraman JT, Angkeow P, Satsangi N, Fernandes G. Effects of dietary n-6 and n-3 lipids on antioxidant defense system in livers of exercised rats. *J Am Coll Nutr.* 17: 586–94, 1998.
335. Varghese S, Lakshmy PS, Oommen OV. Changes in lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities by triiodothyronine (T3) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) in rat liver. *Endocr Res.* 27: 409–16, 2001.
336. Arab K, Rossary A, Flourie F, Tournour Y, Steghens JP. Docosahexaenoic acid enhances the antioxidant response of human fibroblasts by upregulating gamma-glutamyl-cysteinyl ligase and glutathione reductase. *Br J Nutr.* 95(1): 18-26, 2006.
337. Ding WQ, Vaught JL, Yamauchi H, Lind SE. Differential sensitivity of cancer cells to docosahexaenoic acid-induced cytotoxicity: the potential importance of down-regulation of superoxide dismutase 1 expression. *Mol Cancer Ther.* 3(9): 1109-17, 2004.
338. Abdel-Wahab MH. Potential neuroprotective effect of t-butylhydroquinone against neurotoxicity-induced by 1-methyl-4-(2'-methylphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridine (2'-methyl-MPTP) in mice. *J Biochem Mol Toxicol.* 19(1): 32-41, 2005.
339. Ahmad AS, Ansari MA, Ahmad M, Saleem S, Yousuf S, Hoda MN, Islam F. Neuroprotection by crocetin in a hemi-parkinsonian rat model. *Pharmacol Biochem Behav.* 81(4): 805-13, 2005.
340. Yargicoglu P, Yaras N, Agar A, Gumuslu S, Abidin I, Bilmen S. Effects of N-nitro l-arginine methyl ester (l-NAME), a potent nitric oxide synthase inhibitor, on visual evoked potentials of rats exposed to different experimental stress models. *Acta Physiol Scand.* 180(3): 307-16, 2004.

ÖZGEÇMİŞ

16.11.1981 tarihinde Konya'da dünyaya gelen Özlem KÖSE, ilk, orta ve lise öğrenimini Konya'nın Seydişehir ilçesinde tamamladı. 1999 yılında Seydişehir Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 1999 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde yüksek öğrenimine başladı. 2003 yılında lisans diplomasını aldı. Aynı yıl içinde Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başlayarak araştırma görevlisi kadrosuna atandı. Halen Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır. Yabancı dili İngilizce'dir.