



**İDİOPATİK PARKİNSON HASTALIĞININ PATOGENEZİNDE
ROL ALAN MOLEKÜLER YOLAKLARDA EPİGENETİK
DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI**

Yağmur İNALKAÇ GEMİCİ

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ahmet KOÇ**

Doktora Tezi – 2021

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

**İDİOPATİK PARKİNSON HASTALIĞININ PATOGENEZİNDE ROL ALAN
MOLEKÜLER YOLAKLARDA EPİGENETİK DEĞİŞİKLİKLERİN
ARAŞTIRILMASI**

Yağmur İNALKAÇ GEMİCİ

**Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ahmet KOÇ**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından TDK-2020-2263 Proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA
2021**

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Parkinson Hastalığı	4
2.1.1. Klinik Manifestasyonlar	4
2.1.2. İdiopatik Parkinson Hastalığı Tanı Kriterleri	6
2.1.3. Biyomarker Araştırmaları	7
2.1.4. Tedavi	8
2.1.5. Patogenez	11
2.1.6. Patofizyoloji	13
2.2. Hücre Dejenerasyonunun Ana Mekanizmaları	17
2.2.1. Protein Yanlış Katlanma, Aggregasyon ve Toksisitesi	17
2.2.2. Proteoliz Defekti	20
2.2.3. Otofaji	21
2.2.4. Mitokondrial Disfonksiyon	23
2.3. Epigenetik Mekanizmalar	24
2.3.1. DNA Metilasyonu	24
2.3.2. Diğer Epigenetik Mekanizmalar	26
3. MATERYAL VE METOD	28
3.1. Araştırmanın Genel Özellikleri	28
3.2. Uygulama Alanı ve Örneklem Seçimi	28
3.3. Dahil Edilme ve Dışlama Kriterleri	28
3.4. Uygulanan Anketler	29
3.4.1. Birleşik Parkinson Hastalığı Değerlendirme Ölçeği	29
3.4.2. Hoehn ve Yahr Skalası	30
3.4.3. Schwab İngiliz Günlük Yaşam Aktivitesi	30
3.4.4. Minimal Değerlendirme	30

3.4.5. Geriyatrik Depresyon Ölçeği	31
3.4.6. Epworth Uykululuk Ölçeği	31
3.5. Hastalardan Kan Alma İşlemi	31
3.6. Moleküler Analizler	31
3.6.1. DNA izolasyonu	31
3.6.2. İlgili Genlerin Belirlenmesi	31
3.6.3. Primerlerin Standardizasyon İşlemi	33
3.6.4. Metilasyon Spesifik Restrüksiyon Enzimi ile DNA'ların Metillenmemiş Promotör Bölgelerinden Kesilme İşlemi	34
3.6.5. Real Time PCR ile Analiz	38
3.7. İstatistiksel Analiz	41
4. BULGULAR	42
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	60
EKLER	72
EK-1. Özgeçmiş	72
EK-2. Etik Kurul Onayı	75
EK-3. Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği	77
EK-4. Hoehn ve Yahr Skalası	95
EK-5. Geriyatrik Depresyon Ölçeği	96
EK-6. Epworth Uykululuk Ölçeği	97
EK-7. Standardize Minimental Test	98
EK-8. Schwab ve England Günlük Yaşam Aktiviteleri Değerlendirme Sistemi	99

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca engin bilgi ve deneyiminden yararlandığım, tez danışmanım olmasından dolayı derin bir sevinç duyduğum tez konusunun belirlenmesinden metodoloji dizaynına, laboratuvar işlemlerindeki aksaklıkların giderilmesinden tez yazımana kadar her konuda her zaman beni yönlendirerek yol gösteren sayın Prof Dr. Ahmet KOÇ'a,

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Adabilim Dalı'nda doktora eğitimim sürecinde katkısı olan başta Anabilim Dalı başkanı sayın Prof Dr Elif YEŐİLADA olmak üzere tüm anabilim dalı öğretim üyelerine ve tez izleme komitesinde yer alarak değerli katkılarıyla yol gösteren sayın Prof Dr Şengül YÜKSEL ve Prof Dr Özden KAMIŐLI'ya

Laboratuarda beraber çalıştığımız ve güzel anılar paylaştığımız dostluklarıyla eğitim sürecime huzur ve neşe katan değerli arkadaşlarım Kübra DURMUŐ, Muhammed ve Feyza DÜNDAR'a

Bu zorlu süreçte benim heran yanımda olarak beni cesaretlendiren, güven veren, ben çalışabileyim diye kendi zamanından çalan ve emek veren çok değerli eşime,

Sırf benimle vakit geçirebilmek için ben bilgisayar başında çalışırken kendisi de yanımda ders çalışan biricik kızıma,

İlkokuldan doktora eğitimine kadar her türlü zorlukta yanımda olan anne ve babama,

Sonsuz teşekkürlerimi sunmaktan mutluluk duyarım.

ÖZET

İdiopatik Parkinson Hastalığının Patogenezinde Rol Alan Moleküler Yolaklarda Epigenetik Değişikliklerin Araştırılması

Amaç: İdiopatik Parkinson hastalığına nedeni moleküler düzeyde tam olarak belirlenememiştir. Dejenerasyona neden olabilecek moleküler mekanizmalardan yanlış katlanmış protein stresi ve otofaji ön plana çıkmıştır. Endoplazmik retikulum stresi ve otofajide görevli proteinlerin gen ekspresyonunu etkileyebilecek epigenetik değişikliklerin bu hastalığın patofizyolojisindeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal Metod: Parkinson tanısı almış hastaların kanlarından DNA izole edilerek metilasyon spesifik restriksiyon enzimleri ile elde edilen DNA'lar kesilmiştir. Kesilmiş ve kesilmemiş DNA'lar RT PCR ile amplifiye edilerek DNA'lar arasındaki PCR sonucunun farkı ile metile olmayan DNA miktarı elde edilmiştir. Hastalarla kontroller arasındaki metilasyon farklılığı ve hastaların inflamasyon markerları ile ilişkisi değerlendirilmiştir.

Bulgular: ER stres ve otofaji ilişkili genlerin metilasyon düzeyi kontrollere göre düşük saptanmıştır. (EIF2AK3 p=0.015, MAOA p=0.003, ATF6 p=0.002, NBR1 p=0.007, GBA p=0.012, LRRK2 p=0.043, PRKN p=0.005, ASK1 p=0.035 ve CHOP p<0.001) değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmışken XBBP istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0.157). XBP1 metilasyon düzeyi ile mini mental test arasında pozitif (r=0.563, p=0.003), sedimentasyonları ile negatif korelasyon gözlenmiştir (r=-0.661, p=0.010). Otofaji ile ilişkili PRKN gen metilasyon düzeyi depresyon ile negatif korele olarak izlenmiştir (r=-0.434, p=0.030). CHOP geninin metilasyon düzeyi inflamasyon markerı olan M/HDL ile negatif koreledir (r=-0.437, p=0.038). LRRK2 metilasyon düzeyi ile sedimentasyon negatif korele olarak saptanmıştır (r=-0.546, p=0.043).

Sonuçlar: PH patogenezinde ER stres, otofaji ve epigenetik regülasyon arasında ilişki mevcuttur. Bu ilişki nörodejeneratif ve nöroprotektif yollar arasındaki dengeyi oluşturmaktadır. Nörodejeneratif süreci hızlandırdığı düşünülen terminal ER stress ilişkili genlerde hipometilasyon patogenezde önemli role sahiptir. Özellikle PH geliştikten sonra bu genlerdeki hipometilasyon ve inflamasyonun çift yönlü etkileşimi PH kliniğinin ilerlemesinde önemli bir etkidir.

Anahtar kelimeler: DNA metilasyonu, ER stress, İnflamasyon, Otofaji, Parkinson Hastalığı

ABSTRACT

Investigation of Epigenetic Changes in Molecular Pathways Involved in the Pathogenesis of Idiopathic Parkinson's Disease

Aim: Among the molecular mechanisms of Parkinson's disease pathogenesis misfolded protein stress and autophagy have come to the fore. It was aimed to investigate the role of epigenetic changes that may affect gene expression of proteins involved in endoplasmic reticulum stress and autophagy in the pathophysiology of this disease.

Material and Method: DNA was isolated from the blood and the DNAs were cut with methylation specific restriction enzymes. The cut and uncut DNAs were amplified by RT PCR, and the amount of unmethylated DNA was obtained with the difference of the PCR result. The methylation difference between patients and controls and the relationship between patient's inflammation markers were evaluated.

Results: The methylation levels of genes were lower in PD patients (EIF2AK3 $p=0.015$, MAOA $p=0.003$, ATF6 $p=0.002$, NBR1 $p=0.007$, GBA $p=0.012$, LRRK2 $p=0.043$, PRKN $p=0.005$, ASK1 $p=0.035$ and CHOP $p<0.001$). XBBP was not statistically significant ($p=0.157$). A positive correlation was observed between XBP1 and mini mental test ($r=0.563$, $p=0.003$), A negative correlation was observed between XBP1 and sedimentation ($r=-0.661$, $p=0.010$), PRKN and depression ($r=-0.434$, $p=0.030$), CHOP and M/HDL ($r=-0.437$, $p=0.038$), LRRK2 and sedimentation ($r=-0.546$, $p=0.043$).

Conclusion: There is a relationship between ER stress, autophagy and epigenetic regulation in the pathogenesis of PD. This relationship creates the balance between neurodegenerative and neuroprotective pathways. Hypomethylation in terminal ER stress-related genes thought to accelerate the neurodegenerative process. Especially after the development of PD, the bidirectional interaction of hypomethylation and inflammation in these genes is an important factor in the progression of PD clinic.

Key words: DNA methylation, ER stress, Inflammation, Autophagy, Parkinson's Disease

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALS	: otofaji lizozomal sistem
ASK1	: apoptoz sinyal düzenleyici kinaz 1
ATF	: aktive edici transkripsiyon faktörü
BCL	: b hücreli lenfoma
BiP	: İmmunoglobulin bağlayan protein
BPHDÖ	: Birleşik Parkinson Hastalığı değerlendirme Ölçeği
CALCA	: Kalsitonin ilişkili Polipeptit Alfa
CHOP	: C/EBP homolog proteini
COMT	: katekol O metiltransferaz
CREB	: Siklik AMP'ye yanıt veren element bağlayıcı protein
CREB3L3	: Siklik AMP'ye yanıt veren element bağlayıcı protein 3 benzeri protein 3
CRP	: C reaktif protein
CT	: döngüsel eşik
CXCL3	: fraktalkin
DAT SPECT	: Dopamin transporter tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi
DJ-1	: redoks sensor
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNMT	: DNA metiltransferaz
dopa-PET	: dopamin pozitron emisyon tomografi
EİF2alfa	: ökaryotik transkripsiyon başlatıcı faktör 2
ER	: endoplazmik retikulum
ERAD	: ER ilişkili degradasyon
EUÖ	: Epworth Uykuölçümü ölçeği
FMR1	: frajil mental retardasyon 1
GBA	: glukoserebrozidaz
GDÖ	: Geriyatrik Depresyon Ölçeği
GPe	: globus pallidus eksternus
GPI	: Globus pallidus internus
GWAS	: Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları
H&Y	: Modifiye Hoehn-Yahr Evrelemesi

HSP	: ısı şoku proteinleri
IL-6	: interlökin 6
IRE1	: inositol gerektiren enzim 1
JNK	: Jun N terminal kinaz
L/M	: lenfosit monosit oranı
LAMP2A	: lizozom ilişkili membran proteini 2A
LB	: Lewy cisimciği
LN	: lewy nöritleri
LRRK2	: lösinden zengin tekrarlayan kinaz 2
M/HDL	: monosit/yüksek dansiteli protein
MAM	: mitokondri ilişkili membran
MAOA	: Monoamin oksidaz A
miRNA	: mikro ribonükleik asit
MMDD	: Mini Mental Durum Değerlendirmesi
MR	: manyetik rezönans
mRNA	: mesajcı RNA
MSRE-PCR	: metilasyon sensitive restriksüyon enzim bazlı PCR
MSS	: merkezi sinir sistemi
N/L	: Nötrofil lenfosit oranı
NBR1	: BRCA komşu bölgesi 1
NF-Y	: nükleer transkripsiyon faktörü Y
NMDA	: N metil D aspartate
OD	: Otozomal dominant
OCT	: optik kohorans tomografi
ORF	: açık okuma çerçevesi
PARKIN	: E3 ligaz
PH	: Parkinson Hastalığı
PERK	: protein kinaz RNA benzeri ER kinaz
PINK1	: protein stabilitesi
PTM	: post-trasnlayonel modifikasyon
Q10	: koenzim Q10
RAB1A	: Ras ilişkili protein 1A
REM	: Hızlı göz hareketleri
RER	: ribozomal ER

RNA	: ribonükleik asit
RT-qPCR	: gerçek zamanlı Polimeraz zincir reaksiyonu
SAM	: S-adenosilmetiyonin
SER	: düz ER
SİGYA	: Schwab ve İngiltere Günlük Yaşam Aktiviteleri Ölçeği
SNCA	: Sinüklein alfa
ŞAO	: şaperon aracılıklı otofaji
T/L	: trombosit lenfosit oranı
TF	: transkripsiyon faktörleri
TNF	: tümör nekroz faktörü
TRAF2	: TNF reseptör ilişkili faktör 2
UPR	: yanlış katlanmış protein cevabı
UPR	: yanlış katlanmış protein cevabı
UPS	: ubikutin proteosomal sistem
XBP1	: X kutusu bağlayıcı protein 1
α-SYN	: alfa sinüklein

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Parkinson patogenezinde etkili olan mekanizmaların şematik gösterimi.	13
Şekil 2.2. Bazal Gangliyonların Klasik Modeli.....	14
Şekil 2.3. Alfa sinükleinin hücre içi formlarının ve döngüsünün şematik gösterimi	16
Şekil 2.4. ER stress sinyal yollarını gösteren şematik gösterim	20
Şekil 2.5. Otofaji formları ve alfa sinükleinin agregatlarının otofajik degradasyonunun şematik gösterimi	23
Şekil 2.6. MPTP ile oluşturulmuş Parkinson modelinde mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun şematik gösterimi	24
Şekil 2.7. DNA metilasyonunda DNA metiltransferazların rolünün şematik gösterimi ...	26
Şekil 3.1. Enzim kombinasyonu ile kesilen DNA'ların elektroforez görünümü.....	35
Şekil 3.2. Üçlü enzim ile DNA kesimi ile elde edilen elektroforez görüntüsü	36
Şekil 3.3. Bazı hasta örneklerinin izole edilen DNA'larının MSRE ile kesim reaksiyonu sonrasında elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	37
Şekil 3.4. Kesilmiş DNA ile kurulan PCR reaksiyonu sonrası yürütülen jel elektroforez görünümü	40
Şekil 4.1. ER stres ve Otofaji ilişkili genlerin Parkinson hastalığında epigenetik regülasyonunun kontrolle karşılaştırılması olarak gösterilmesi	43
Şekil 4.2. ER stres ve otofaji ilişkili genlerin hipometilasyon düzeyleri ile hastaların klinik ve inflamatuvar markerları arasında korelasyon saptanan verilerin gösterimi.....	45

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Parkinson hastalığının motor semptomlarında ilaçların tedavide kullanım stratejileri	11
Tablo 2.2. Motor olmayan semptomlarda tedavi seçenekleri	11
Tablo 2.3. Parkinson Hastalığında tanımlanmış genetik mutasyonlar	12
Tablo 3.1. Genlerin promoterlerine spesifik primerleri	33
Tablo 3.2. Primerlerin önerilen ve saptanan optimal çalışma sıcaklıkları	34
Tablo 3.3. MSRE tanıma bölgeleri (enzim kesim bölgeleri)	35
Tablo 3.4. Metilasyon spesifik restrüksiyon enzimi ile DNA kesim reaksiyonu	36
Tablo 3.5. Kontrol genlerinin primer sekansları	37
Tablo 3.6. Her bir gende MSRE ile kesilen bölge sayısı	38
Tablo 3.7. PCR reaksiyonunda kullanılacak maddeler ve oranları	39
Tablo 3.8. PCR reaksiyonu döngü programı.....	39
Tablo 4.1. Katılımcıların karakteristik özellikleri.....	43
Tablo 4.2. Hasta grubunda cinsiyet ve ilişkili genlerin metilasyon düzeyi arasındaki ilişki	44
Tablo 4.3. Hastaların demografik ve klinik özellikleri ile ER stres ve otofaji ilişkili genlerin metilasyon düzeyi arasındaki korelasyon analizi	46
Tablo 4.4. Hastaların inflamasyon markerları ile ER stres ve otofaji ilişkili genlerin metilasyon düzeyleri arasındaki korelasyon analizi	47

1. GİRİŞ

İdiyopatik Parkinson Hastalığı (PH) Alzheimer'dan sonra en sık görülen maluliyet yaratan yaş ilişkili kompleks idiopatik nörolojik hastalıktır. Bradikinezi, tremor, rijidite, yürüme ve postür bozukluğu gibi motor semptomlara ek olarak konstipasyon, hızlı göz hareketleri (REM) uyku davranış bozukluğu, kognitif fonksiyon bozukluğu ve otonom sinir sistemi tutulumu gibi nonmotor bulgularla kendini gösterir. Patolojisinde substansiya nigra pars kompakta da dopaminerjik nöron kaybı ve striatumda dopamin azalması olduğu bilinmekte ancak dopaminerjik nöron kaybının asıl mekanizması tam olarak bilinmemektedir (1). Genetik nedenler kapsamında protein stabilitesini bozan bazı mutasyonlar bulunmuştur. Bunlara α -SYN (proteozom), PARKIN (E3 ligaz), DJ-1 (redoks sensor) ve PINK1 (protein stabilitesi) örnek verilebilir. Çevresel faktörler arasında ise 6-hidroksidopamin ve 1-metil-4-fenilpiridinyum nörotoksinleri sayılabilir (2). Bu multifaktöryel etmenlerin tetiklediği olası mekanizmalar arasında mitokondriyal hasar, enerji azlığı, oksidatif stres, eksitotoksisite, protein katlanma sorunları, hücre otonom mekanizmaları ve prion benzeri protein enfeksiyonu sayılabilir. Son zamanlarda protein katlanma ve yıkılma sürecindeki patolojilerin daha ön plana çıktığı söylenebilir. Parkinsondaki asıl protein inklüzyonu lewy cisimcikleridir (LB). Lewy cisimciklerinin ana yapısını ubikütin depositleri ve alfa sinüklein oluşturmaktadır (1). Sinüklein alfa (SNCA) tarafından kodlanan alfa sinükleinin presinaptik terminallerde bulunduğu ve nörotransmisyonunda, nöronlar arası iletişimde ve nöronal vesikül trafiğinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Ubikütin ise proteinleri biyokimyasal olarak değişikliğe uğratarak onları degradasyona yönlendiren bir proteindir. Son zamanlarda yapılan hayvan çalışmalarında mutasyona uğramış alfa sinükleinin disagregasyona, transkripsiyonal disregülasyona, golgi ve endoplazmik retikulum (ER) fonksiyon bozukluklarına neden olarak dopaminerjik nöron hasarına yol açtığı gösterilmiştir (3). Yabani tip alfa sinükleinin oligomerik ve prefibriller yapılar oluşturmaya yatkınlığı gösterilmiştir. Bu yapıların protein degradasyonunda önemli olan lizozomal protein trafiğini değiştirdiği bildirilmiştir. Erken çözünebilir oligomerik formun mitokondride kompleks 1 ile etkileşime girerek ve reaktif oksijen radikalleri oluşturarak dopaminerjik nöronlarda nörotransmitter iletişiminin bozulmasına yol açtığı gözlemlenmiştir (3). Epigenetik değişiklikler deoksiribonükleik asit (DNA) yapısında mutasyon olmadan protein sentezinde oluşabilecek patolojileri kısmen yazım alanları gerektiği kadar

uzatılabilir açıklayabilecek mekanizmaları içermektedir. Bunlar DNA metilasyon değişiklikleri, histon modifikasyonu ve mikro ribonükleik asitler (miRNA) ile mRNA'ların posttranskripsiyonel modifikasyonu olarak tanımlanmıştır.

ER'nin protein sentezi, katlanması ve lokalizasyonunda rol alan esas organel olduğu ve bu görevleri gerçekleştirmesinde şaperonların, glikolizasyonda görevli proteinlerin ve ER'nin oksidatif ortamının ana etkenler olduğu bilinmektedir. ER deki sinyal yollarının aktive olmasına yanlış katlanmış protein cevabı (unfolded protein response-UPR) adı verilmektedir. Hücresel gereksinimler karşılandığı sürece UPR'ın adaptif olduğu ancak protein birikimi hücresel faaliyetleri bozmaya ve hücre gereksinimlerini etkilemeye başladığında UPR'ın terminal hale gelerek apoptoz başta olmak üzere hücre ölüm yollarını aktive ettiği belirtilmiştir. Terminal UPR ile hücre ölümünün aktif olarak görüldüğü hastalıkların çoğunun PH, Alzheimer, amiyotrofik lateral skleroz, multiple skleroz, Huntington ve şizofreni gibi nörodejeneratif hastalıklar olduğu bildirilmiştir. UPR'ın ilk tanımlandığı hastalıklardan birinin de diyabet olduğu gözlenmiştir. Pankreas beta hücrelerinde anahtar UPR fonksiyonlarının çıkarılması ve yanlış katlanmış proteinlerin akümüasyonu ile diyabetin oluşabildiği kanıtlanmıştır (4). ER stres ilişkili yolların terminal UPR gelişmediği sürece PH'de nöroprotektif olduğu söylenebilir dolayısıyla PH'de ER ilişkili tedavi hedeflerinde terminal UPR ilişkili proteinlerin baskılanması; adaptif UPR ilişkili proteinlerin ekspresyon düzeylerinin artırılması hedeflenebilir. Alfa sinüklein overekspresyonu ile mitokondriden ER'ye kalsiyum geçişinin artması için mitokondri ER etkileşiminin arttığı son zamandaki çalışmalarda gösterilmiştir (7). Nörodejeneratif hastalıkların moleküler mekanizmalarının çalışmalarının çoğu kan beyin bariyeri nedeniyle beyin dokusunda yapıldığı bilinmektedir. Ernesto Mirando ve arkadaşlarının yayınladıkları derleme çalışmasında Parkinson hastalarında son zamanlarda yapılan araştırmalarda periferik kan örnekleri ile beyin dokusundaki DNA metilasyon paternleri arasında korelasyon olduğu belirtilmiştir (5). Changliang Wang ve arkadaşlarının yaptığı data integrasyon analizinde gen ekspresyonu ile periferik kanda metilasyon paternlerinin korelasyon datalarında otofaji ve ER stress ilişkili olabilecek fagozom ve lizozom yollarında anlamlı gen disregülasyonu saptanmıştır (6). Patogeneze yönelik gen ekspresyonunun epigenetik düzenlenmesinde ER stress, ER ilişkili degradasyon (ERAD) ve otofaji genlerinin hipermetile olduğu literatür ışığında hipotezlendi. Mevcut çalışma ile hipotezimizin doğrulanması periferik kanda nörodejenerasyonun bir

göstergesi olarak gösterilebilecektir. Parkinson bir protein depolanma hastalığıdır ve lewy body denen alfa sinükleinden oluşan depositlere sekonder nörodejenerasyon ve selektif substansiya nigradaki dopaminerjik nöronların kaybının görüldüğü bilinmektedir. Özellikle erken başlangıçlı ve Parkin gen mutasyonuna sekonder gelişen PH'da LB depositlerinin oluşumunda protein degradasyon yollarında patoloji olduğu gösterilmiştir. Mevcut literatürde PH ilişkili SYNC, Parkin PINK lösinden zengin tekrarlayan kinaz 2 (LRRK2) ve benzeri genlerin metilasyonu incelenmiş ya da genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) ile ilişkili olabilecek her türlü gen metilasyonu çalışmaları yapılmış ve bu çalışmalarda PH ile ilişkisi hiç bilinmeyen bir gen metilasyonu yüksek çıktığında patogenezele ilişkisi kurulamayan birçok gen metilasyonu belirtilmiştir.

Biz spesifik patogenezele ilişkili olabilecek moleküler yollarla ilişkili genlerin metilasyon değişikliklerini incelemeyi ve moleküler mekanizmaların gen ekspresyonu hakkında yorum yapmayı ve periferik kanda PH ilişkisi güçlü bir marker bulabilmeyi hedefledik. Bu araştırma kapsamında idiyopatik Parkinson hastalarında endoplazmik retikulum stresi ve otofaji yollarında rol alan genlerin hipermetilasyonlarının hücrede genel protein homeostazını bozacağı ve Parkinson hastalığı gelişiminde önemli bir etken olacağı düşünülmektedir. Çalışmanın amacı hasta ve kontrol bireylerden alınacak kan örneklerinde protein katlanma ve degradasyon yollarına ait anahtar genlerin metilasyon profillerini inceleyerek hastalığın oluşum mekanizmaları hakkında bilgi elde etmektir. Bu projedeki spesifik hedef ise metilasyon duyarlı restriksiyon enzimlerinden ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) tekniğinden yararlanarak idiyopatik parkinson hastalığında protein agregasyon ve degradasyon yollarında (ER stresi, terminal UPR stresi ve otofaji) görev alan anahtar genlerin metilasyon profillerini ortaya çıkarmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Parkinson Hastalığı

Parkinson Hastalığı 1817 yılında pratisyen hekim James Parkinson tarafından tanımlanmıştır. Parkinson Hastalığı Alzheimer'dan sonra ikinci en yaygın kronik progresif nörodejeneratif hastalıktır. Yaşla beraber insidansı ve prevalansı artmakla birlikte 65 yaş üstü insanların yaklaşık %1'inde görülmektedir. Parkinson hastalığı çoğu popülasyonda erkeklerde kadınlardan iki kat daha fazla izlenmektedir (7, 8). Hastalığın başlangıç yaşı ortalama 50-60 yaş aralığında olup prevalansı ilerleyen yaşla artmakla birlikte genç yaşlarda da başlayabilir. Tüm hastaların %5'inde hastalık 40 yaşından önce başlar. Bu durumda genç başlangıçlı, 20 yaşın altında başlayan hastalarda ise juvenil Parkinson hastalığından söz edilir (9). Yapılan bir metaanalizde 40 yaş üstündeki popülasyonda dünya çapında PH prevalansının %0.3 olduğu saptanmıştır (10). Epidemiyolojik çalışmalarda riskle ilişkili faktörler ise aile öyküsü ve yaş olarak bildirilirken koruyucu faktörler arasında sigara içmek, kafein, ibuprofen ve statin kullanımı ve düzenli egzersiz yapmak yer almaktadır. Tez konumuz Parkinson patogenezinde rol oynayan moleküler mekanizmalarda epigenetik değişiklikler olduğundan ilk önce PH klinik ve tedavisi kısaca anlatılacak sonrasında patogenezinin ayrıntılı olarak bahsedilecektir.

2.1.1. Klinik Manifestasyonlar

Hastalığın kardinal belirtileri bradikinezi, rijidite ve istirahat tremorudur. Tremor 4-6 hertz istirahat sırasında görülse de eller uzatılınca postural tremor da eşlik edebilir. Bu postural tremorun farkı ise kollar uzatıldığında belli bir süre tremor gözlenmeyip sonra yüksek amplitüdü düşük frekanslı tremor gözlenmesi şeklinde olan re-emergement olarak adlandırılan tipik tremor formunda olmasıdır. Aynı zamanda postural-kinetik 5-8 hertz düşük amplitüdü tremorun tabloya eşlik etmesi de nadir değildir. Tremor en sık asimetrik olarak üst ekstremitelerde görülmektedir. Alt ekstremitelerde, çenede, dil ve dudakta da görülebilir. Bir diğer kardinal belirti olan rijiditenin agonist ve antagonist kas kasılmalarının eş zamanlı olması kaynaklı ortaya çıktığı kasta kurşun boru adı verilen kas tonusu artışıyla karakterize muayene bulgusudur. Muayene edilen ekstremitaya yapılan her pasif harekete direnç görülür. Hastalık tansının koyulabilmesi için olmazsa olmaz muayene bulgusu ise bradikinezidir

ve 'bradi' yani yavaşlık ve 'kinezi' yani hareket sözcüklerinden köken almaktadır. Genel olarak hareketlerin yavaşlamasını belirtmektedir. Vücut bölgelerine göre değişik isimler alabilmektedir. Örneğin yüz ifadelerinin donuk ve yavaş olmasına bradimimi, sesin kısıklaşmasına bradifoni, yazının giderek küçülmesine mikrografi, monoton konuşmaya hipokinetik dizartri, yürürken kolların bacakların otomatik hareketlerinin azalmasına asosiye hareket kaybı ve yutma yavaşlaması nedeniyle tükürük artışına siyalore denir. Bir fiğer cardinal motor belirti ise otururken veya ayakta otomatik olarak alınan pozisyonun devamlılığını sağlayan postürel reflekslerin kaybı veya bozulmasıyla oluşan postürel insitabiledir (11).

Parkinsonda izlenebilecek diğer motor belirtiler ise postürel olarak antefleksiyon, kamptokormia, skolyoz, küçük adımlarla yürüme, fetinasyon, donma ve glabellar refleksin gözlenmesidir. Sistemik olarak pulmoner ödem, solunum problemleri ve nörooftalmolojik semptomlar eşlik edebilir (8).

Motor bulgular varlığında PH tanısının konması kolayken motor semptomlardan yıllar önce başlayan non motor semptomların varlığında bu hastalığın tanısını koymak zorlaşır. Non motor semptomlardan en erken izlenenler tek taraflı omuz ağrısı, kabızlık ve koku almada zorlanmadır. Sistemik olarak non motor semptomlar sınıflanacak olursa uyku ile ilişkili değişiklikler (insomnia, uykuyu sürdürmemei REM uyku davranış bozukluğu ve günüçi aşırı uykululuk), psikiyatrik semptomlar (depresyon, halüznasyon ve anksiyete), özellikle ortostotik hipotansiyon, idrar kaçırma, empotans, libido kaybı ve kabızlık gibi gün içi fonksiyonları ve yaşam kalitesini önemli dercede etkileyen otonomik disfonksiyonlar, seboroik dermatit ve büllöz penfigoid gibi dermatolojik patolojiler ve bilişsel fonksiyon bozukluklarıdır. Özellikle demans PH başladıktan en az bir yıl sonra ortaya çıkan hastaların diğer insanlara bağımlılığını arttıran ekonomik ve sosyal olarak yaşamı kötüleştiren en sık non motor semptomdur. Motor semptomlarla beraber ya da öncesinde başlayan demans varlığında PH tanısı tekrar gözden geçirilmelidir (12).

Parkinson hastalığının kliniğine göre üç subtipi bulunmaktadıdır. Bunlar tremor baskın form, akinetik-rijid form ve postürel insitabiledir ve yürüme zorluğu ile seyreden formdur. Literatürdeki bazı çalışmalar klinik subtiplerin prognozla ilişkili olduğunu bildirmektedir.

Parkinson hastalığında patolojiyi oluşturan lewy cisimlerinin yaygınlığı arttıkça semptomatolojisi de progrese olmaktadır. Bu progresyon klinik radyolojik verilerle

desteklenmiştir. Manyetik rezonans (MR) ve dopamin pozitron emisyon tomografi (dopa-PET) çalışmalarında patolojik alanların genişliği arttıkça kliniğin kötüleştiği gösterilmiştir (13). Klinik kötüleşmesi olan hastaların yine patolojilerinin de arttığı izlenmiştir (14, 15).

2.1.2. İdiopatik Parkinson Hastalığı Tanı Kriterleri

Birleşik Krallık Parkinson Hastalığı Derneği Beyin Bankası'nın tanımladığı İdiopatik PH tanı kriterleri aşağıdaki gibidir.

A: Bradikineziye eşlik eden rijidite veya tremor varlığı olmazsa olmazdır.

B: Destekleyici bulgular

- Levodopa tedavisine dramatik ya da belirgin yanıt
- Levodopa ile indüklenmiş diskinezi varlığı
- Bacakta istirahat tremorunun varlığı
- Olfaktör kayıp ya da kalp sintigrafisinde kardiyak sempatik denervasyon varlığının gösterilmesi

C: Kırmızı bayraklar

- Tekerlekli sandalyeye bağımlı bırakacak kadar hızlı yürüme bozukluğunun 5 yıl içinde gelişmesi
- Motor progresyonun olmaması
- Bulber semptomların erken başlaması
- İspiratuar respiratuar bozukluk olması
- İlk 5 yılda şiddetli otonomik yetmezliğin gelişmesi
- Dengenin bozulmasına sekonder gelişen tekrarlayan düşmeler
- Distonik anterokollis ya da ilk 10 yılda gelişen ellerde ayaklarda kontraktür gelişmesi
- Hiçbir non motor semptomun olmaması
- Açıklanamayan pyramidal traktus bulgularının varlığı
- Simetrik bilateral parkinsonizm varlığı

D: kesin dışlama kriterleri

- Sekonder parkinsonizm yapabilecek nedenlerin saptanması (inme, kafa travması, nöroleptik malign sendrom, ensefalit, hidrosefali ve beyin tümörü)
- Okülerjik kriz ve supranükleer bakış paralizilerinin olması
- Erken serebellra, otonomik ve demansiyel bulguların varlığı
- Yüksek doz levodopaya kötü yanıt varlığı

Yukarıdaki A, B, C ve D kriterleri göz önüne alınarak klinik kesin PH demek için

- A maddesi varlığında kesin dışlama kriterlerinin olmaması
- Kırmızı bayrakların olmaması
- İki adet destekleyici kriterin olması gerekmektedir.

Klinik olası PH demek için

- A maddesi varlığında kesin dışlama kriterlerinin olmaması
- Destekleyici kriterin varlığı ile kırmızı bayrak varlığının dengelenmesi gerekmektedir.

2.1.3. Biyomarker Araştırmaları

Parkinson hastalığının tanısının koyulduğu zaman dopaminerjik nöronların yaklaşık %70'inin dejenere olduğu bilinmektedir. Bu nedenle erken tanı ya da prelinik evrede tanı amaçlı belirteçlerin saptanması tedavinin erken başlanmasını sağlayacaktır. Pek çok biyomarker çalışması bu amaçla yapılmıştır, yapılmaktadır ve yapılacaktır. Bu çalışmaları kendi içinde görüntüleme ile ilgili, klinikle ilgili ve biyokimyasal biyomarkerlar olarak sınıflandırabilir (16).

Görüntüleme ile ilgili biyomarker çalışmaları moleküler görüntüleme, transkraniyal sonografi, MR (17) ve optik koherens tomografidir (OCT) kullanılarak yapılmıştır. Moleküler görüntüleme içinde dopamin transporter tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi (DAT SPECT) ve dopa PET vardır. Dopa PET PH için en iyi tanı aracıdır ve PH şiddeti ile koreledir. Transkraniyal ultrason ve MR'ın yeri biyomarker olarak PH'de heniz kanıtlanmamıştır. OCT'de retinal sinir lif kalınlığının PH tanısında potansiyel biyomarker olabileceği gösterilmiştir (18).

Biyokimyasal niyomarkerlar arasında potansiyel olarak PH tanısında kullanılabilecek olanlar glial fibriller asidik protein, PARK7 geni tarafından kodlanan deglikaz encoded protein, ürat, beyin derive nörotrofik faktör, nöroflamen hafif zincir proteini, glutatyon, koenzim Q10, nöromelanin, homosistein ve glukoserebrosidaz ve katepsin gibi lizozomal enzimlerdir (19).

İnflamatuvar biyomarker olarak fraktalkin (CXCL3), zar glikoproteini olan CD200 ve nöral hücre adhezyon molekülleri çalışılmış olsa da sadece fraktalkinin PH tanısı ve prognozuyla ilişkili olduğu gösterilebilmiştir (16).

Klinik biyomarkerlar genel olarak tedavi takibinde ve prognozda kullanılsa da erken tanı için REM uyku davranış bozukluğu ve olfaktör disfonksiyon biyomarker olarak kullanılabilecek klinik belirtiler olarak göze çarpmaktadır (20).

Genetik biyomarkerlar arasında SNCA, Parkin, PINK1, DJ1, LRRK2 ve glukoserebrozidaz (GBA) gen değişimleri en çok araştırılan genlerdir. Özellikle SNCA gen triplikasyonunda alfa sinükleinin iki kat daha yüksek olduğu izlenmiştir (18, 21).

2.1.4. Tedavi

İdiopatik Parkinson Hastalığının moleküler patogenezi aydınlatıldıkça patogeneze yönelik tedavi çalışmaları da hız kazanmaktadır. Ancak hala Dünya Sağlık Örgütü onaylı patogenetik tedavi onayı alabilmiş ilaç bulunmamaktadır. Semptomatik tedavinin temeli ise eksik olan dopamini yerine koymaya, dopaminin yıkımını azaltmaya ve geri alımını inhibe ederek etkisini uzatmaya dayanmaktadır. Bu amaçla dopamin agonistleri, dopaminin periferde yıkılmasını engelleyen katekol O metiltransferaz (COMT) inhibitörleri olan entakapon ve tolkapon, dopaminin santral sinir sisteminde yıkılmasını engelleyen monoamin oksidaz A (MAOA) inhibitörleri olan rasajilin ve selejilin, dopamin prekürsörü olan levodopa, dopaminin geri alımını inhibe eden ve veziküler salınımını arttıran amantadin ve dopamin asetilkolin dengesinin değişimine bağlı oluşan kolinerjik etkiyi baskılayacak antikolinerjikler kullanılmaktadır (22).

Mevcut tedaviler arasında altın standart tedavi striatal dopaminin eksikliğini gidererek motor semptomları belirgin düzelten dopamin prekürsörü olan levodopadır. Bu tedavinin etkinliğinin yanı sıra motor dalgalanmalar ve motor diskineziler gibi yan etkilerinin de olması, etkinliğinin giderek azalması, postural insitabilite, donmalar, disfaji ve dizartri gibi aksiyel motor semptomlar ve tremora etkisinin az olması gibi

olumsuz yönleri de vardır. Dopamin prekürsörü olan levodopa dopaminin kan beyin bariyerine geçememesi nedeniyle kullanılır ve periferde yıkılmasını önleyecek olan benserazid ya da karbidopa gibi dopa dekarboksilaz inhibitörleri ile birlikte verildiğinde merkezi sinir sistemine (MSS) daha yüksek dozlarda geçebilir. Nöropsikiyatrik komplikasyonlar, diskineziler, ani on-off fenomeni, doz sonu kötüleşmesi ve zamanla motor fluktuasyonların gelişmesi gibi yan etki profili nedeniyle 65 yaşın üzerindeki PH hastalarında ilk tercih olarak kullanılmaktadır (23).

Dopamin agonistleri dopamin metabolizmasına girmeden postsinaptik dopaminergic reseptörleri uyararak etkilerini göstermektedirler. Levodopadan sonra en etkili ilaç grubunu oluşturmaktadır. Daha az motor komplikasyon geliştirmeleri ve diskinezi ve motor dalgalanma gibi komplikasyonların gelişimini geciktirmeleri levodopaya üstünlükleridir. Bu nedenle 65 yaş altındaki PH hastalarında dopamine agonisti ile başlayıp ilaç yetersiz geldiğinde levodopaya geçiş yapmak yan etkilerin gecikmesini sağladığı gibi dopamin ile daha uzun tedavi imkanı sağlamaktadır (23).

Monoaminoksidaz enziminin izoformu olan MAO-B'yi irreversible bloke eden selejilin ve rasajilin MSS'de dopaminin yıkılmasını engelleyerek etki süresinin artmasını sağlarlar. Monoterapide kullanılabileceği bilinmekle birlikte etkinliği göreceli zayıftır. Rasajilin ayrıca erken evre PH'de başlanması durumunda hastalığın progresyonunu yavaşlatarak levodopa ya da dopamine agonisti başlanmasını geciktirebileceğini bildirmiş çalışmalar mevcuttur.

MSS'de MAO-B inhibitörleri dopamin yıkılmasını engellerken oral olarak dopamin alındıktan sonra periferik olarak dopaminin yıkılmasını engellemek MSS'e daha fazla dopamin geçmesini sağlayarak semptomatik tedavinin etkinliği artırılabilir. Bu amaçla dopaminden 3-O-metildopa oluşturan COMT) enziminin blokajını sağlayan COMT inhibitörleri kullanılmaktadır.

Bir glutamate reseptörü olan N metil D aspartat (NMDA) reseptörlerini bloke ederek etkinliğini gösteren amantadin diskinezilerin semptomatik tedavisinde kullanılmaktadır. Bu diskineziler genellikle dopamin tedavisine sekonder gelişen koreiform karakterdedir. İleri evre PH'da levodopanın yan etkilerini dengeleyerek daha uzun semptomatik tedavinin devamını sağlamaya yardımcıdır.

Parkinson hastalığında dopamin asetilkolin dengesinin bozulmasıyla kolinerjik etkilerin artması nedeniyle antikolinerjik ilaçların semptomatik olarak etkinliği gösterilmiştir. Bu etkinlik özellikle tremor üzerinde belirgindir (24).

Medikal tedaviler dışında PH tedavisinde cerrahi ve girişimsel tedavi yöntemleri de bulunmaktadır. Bunlar diskinezisi ve sabah sertliği nedeniyle yatak içi hareketleri kısıtlanan hastalarda apomorfın infüzyonu, dopamin yan etkileri geliştiğinde ya da doz aralıklarının kısa tutulması gerektiğinde duodopanin jejenostomi ile infüzyonu son olarak da derin beyin stimülasyonu olarak özetlenebilir.

Motor olmayan semptomların tedavisi yine semptomatik olarak düzenlenmektedir. Örneğin en sık görülen non motor semptom olan depresyon tedavisinde trisiklik antidepresanlar ve serotonin geri alım inhibitörleri kullanılırken, uyku bozukluğunda atipik antipsikotikler düşük dozda kullanılmaktadır. REM uyku davranış bozukluğunun tedavisinde melatonin ve klonezapam en sık kullanılan ajanlardır. Ortostatik hipotansiyon varlığında fledrokortizon kullanılır (25).

Fiziksel aktiviteler de yine semptomatik tedavide çok önemli yere sahiptir. Bunların arasında en sık önerilen yürüyüş ve yüzmeyken hastaların bisiklet kullanma gibi antefleksiyon postürü arttıracak aktivitelerden kaçınmaları gerekmektedir (26). Parkinson hastalığının motor semptomlarında ilaçların tedavide kullanım stratejileri tablo 2.1’de özetlenmiştir. PH’nin non motor semptomlarına yönelik tedavi stratejileri ise tablo 2.2’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Parkinson hastalığının motor semptomlarında ilaçların tedavide kullanım stratejileri

İlaç	Etki mekanizması	Tercih edilecek durumlar	Doz	Yan etki profili
MAO-B inhibitörleri • SELEJILIN • RASAJILIN	Dopaminin MSS'de yıkılmasını engeller	Erken evre PH'de ilk tercih edilecek ilaçtır	2*5mg 1*1mg	Bulantı, başağrısı konfüzyon halüsinasyon Dürtü kontrol bzk
Amantadin	NMDA reseptör blokajı	Tremor baskın erken evre PH ve diskinezi kontrolü	3*100mg	Liverdo retikülaris, bileklerde ödem, konfüzyon, halüsinasyon
Antikolinerjikler • TRIHEKSİFENİDİL • BENZTROPİN	Dopamin-asetilkolin arasındaki bozulmuş balansı dengeler	Tremor baskın erken evre PH	3*2mg 2*0,5-2mg	Hafıza kötüleşmesi, konfüzyon, halüsinasyon, ağız kuruluğu, görme bulanıklığı, bulantı, konstipasyon, taşikardi, üriner retansiyon
Dopamine agonistleri • PRAMIPEKSOL • ROPINIROL • APOMORFIN	Striatumda azalmış dopaminin yerine koyma tedavisi	Erken ve orta evre Parkinson tedavisinde ilk tercih	3*1.5mg 1*8mg subkutan	uyku atakları, konfüzyon, ortostatik hipotansiyon, bulantı eritemin eşlik ettiği ayak bileği ödemi
Levodopa	Striatumda azalmış dopaminin yerine koyma tedavisi	Orta ileri PH'de ilk tercih	5*50-200mg	Bulantı kusma ortostatik hipotansiyon aritmi halüsinasyon ve psikotik bulgular
COMT inhibitörleri • ENTOKAPON • TOLKAPON	Dopaminin PSS'de yıkılmasını engeller	Orta ileri PH'de levodopa ile combine	5*200mg 3*100mg	Bulantı, GİS semptomları ortostatik hipotansiyon

MAO-B: monoamine oksidaz B, MSS: merkezi sinir sistemi, PH: Parkinson Hastalığı, NMDA: N metil D aspartic asit, COMT: katekol O metil transferaz, PSS: periferik sinir sistemi, GİS: gastrointestinal sistem

Tablo 2.2. Motor olmayan semptomlarda tedavi seçenekleri

Semptom	İlaç tercihi	Önemli not
Demans	Rivastigmin	3-12mg
Depresyon	SSRI/SNRI TCA Parmipeksol TMS	Pramipeksol dopamine agonisti olmasına rağmen klinik çalışmalarda depresyona da etki ettiği gösterilmiştir.
Psikoz	PH ilaç dozu ayarlanması Pimavanserin Klozapin ketiyapin	Öncelikle psikoza neden olan ilacın dozunu azaltmak ya da kesmeli hala psikoz devam ederse ek ilaç başlanmalı. Klozapin verilirken nötropeni kontrolünün yapılması gerekir.
REM uyk davranış bozukluğu	Melatonin klonazepam	Tek başına melatonin kullanılmamalı
Otonomik bulgular	Fludrokortizon Mitodrin Droksidopa Botox	Antikolinerjikler üriner retansiyon gibi otonomik bulguları tedavi etse de konfüzyon ve halüsinasyona neden oldukları için tercih edilmezler.

SSRI: serotonin geri alım inhibitörü, SNRI: noradrenalin serotonin geri alım inhibitörü, TCA: Trisiklik antidepressanlar, TMS: transmanyetik stimülasyon

2.1.5. Patogenez

Substantia nigra pars kompaktanın dejenerasyonu sonucu buradan salınan dopaminin azalması ile bazal gangliyon, motor korteks ve beyin sapındaki

nörotransmisyon dengesinin bozulması Parkinson hastalığının kliniğini oluşturan asıl patogenetik süreçtir (7). Substansia nigradaki hücrelerin neden dejenere olduğu ile ilgili moleküler düzeyde çalışmalar yapılmaktadır. Multifaktöriyel olarak hücre içi organellerin dinamiklerinin değişiminin yaşla beraber etkin olduğu düşünülmektedir. Substansiya nigrayı oluşturan hücrelerin en az %60-80'inin dejenere olması ile ancak klinik presentasyon oluşmaktadır. Klinik presentasyonun yıllar öncesinde kranial patolojik süreçlerin başladığı söylenebilir. Patogeneze yönelik tedaviler geliştirildiği zaman prelinik evrede Parkinson tanısını koyduracak biyobelirteçlerin saptanması önem kazanacağından biyobelirteç çalışmaları bu tarz nörodejeneratif hastalıklarda anahtar rol oynayacaktır (27).

Dopaminerjik nöron kaybında etkili multifaktöryel nedenlere bakılacak olursa kesin olarak etkinliği gösterilmiş nedenlerden biri genetik mutasyonlardır. Bu mutasyonlara nelerin yol açtığı belirlenmesi ve mutasyon sonrasında oluşan patolojik süreçlerin aydınlatılması da patogenetik tedavi yaklaşımlarına katkı sağlayacaktır. Hastalığın yaklaşık %5-10'u monogenik kalıtmı ailesel mutasyonla ilişkiliyken büyük çoğunluğu çevresel faktörler, epigenetic değişiklikler, yaşam tarsi ve DNA sekans varyasyonları ile ilişkilidir. Ancak LRRK2 otozomal dominant (OD) geçişli PH hastalarında ilk olarak tanımlanmış olsa da artık sporadic PH vakalarının %1-2'sini oluştururken ailesel PH'nin %5-6'sını oluşturur (28). PH'de tanımlanmış genetik mutasyonlar ile ilişkili proteinleri tablo 2.3'de özetlenmiştir.

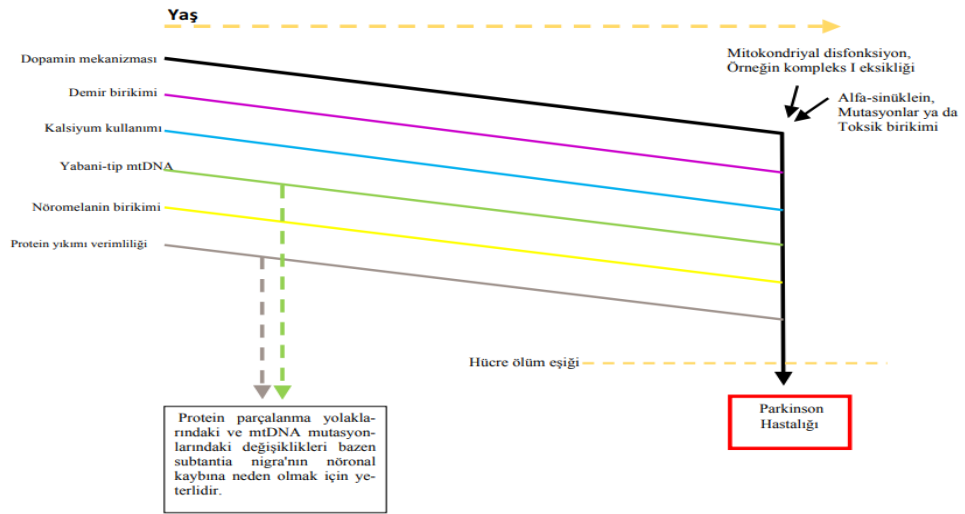
Tablo 2.3. Parkinson Hastalığında tanımlanmış genetik mutasyonlar

Gen adı	Protein	Mutasyon tipi	Hastalık
SNCA	Alfa sinüklein	OD	Klasik PH
LRRK2	Protein kinaz	OD	GBPH
Parkin	Parkin	OR	EBPH
PINK1	Protein kinaz	OR missens, nonsens	EBPH
DJ-1	Dimeric yapılı protein	OR nokta mutasyon, ekzonik delesyon	EBPH
ATP13A2	Lizozomal transmembrane proteini	OR nokta mutasyon, ekzonik delesyon demir birikimi	EBPH
PLA2G6		OR	EBPH distoni
FBOX7		OR missens mutasyon	EBPH

SNCA: sinüklein alfa, LRRK2: lösinden zengin tekrarlayan kinaz 2, PINK1: PTEN ile indüklenen kinaz 1, DJ1: protein deglikaz, PLA2G6: fosfolipaz A2 grup 6, FBOX7: faz kinaz ilişkili protein OD: otozomal dominant, OR: otozomal resesif, EBPH: erken başlangıçlı Parkinson hastalığı, GBPH: geç başlangıçlı Parkinson hastalığı,

Çevresel faktörlerden PH ile ilişkili en bilinen etken tarım ilaçlarıdır. Özellikle parakuat ve maneb genç başlangıçlı PH ile ilişkili bulunmuştur. SNCA gen mutasyonu olan hastaların ise tarım ilaçlarına maruziyetleri ile PH başlangıç yaşının daha erken olduğu söylenebilir. Diğer çevresel etkenler incelendiğinde demir, kurşun ve manganez gibi ağır metaller ön plana çıkmaktadır. Ağır metallerin etki mekanizmasının özellikle oksidatif strese neden olarak alfa sinüklein agregasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Kurşun lipid peroksidasyonunu artırırken manganez alfa sinüklein ekspresyonu yapan N27 dopaminerjik hücrelerde yığılmaya neden olmaktadır. Pozitif yönde etki ederek PH’de risk azalmasını sağlayan çevresel faktörler de bulunmaktadır. Bunlar sigara, alkol ve kahvedir.

Tüm bu çevresel ve genetic faktörlerle birleştiğinde PH riskini arttıran önemli bir faktör de yaştır. Yaşla beraber her on yılda substansia nigradaki dopamin salgılayan hücrelerin yaklaşık %4-10 arasında azaldığı gösterilmiştir (29). Yaşla PH riski arasındaki ilişki şekil 2.1’de gösterilmiştir.

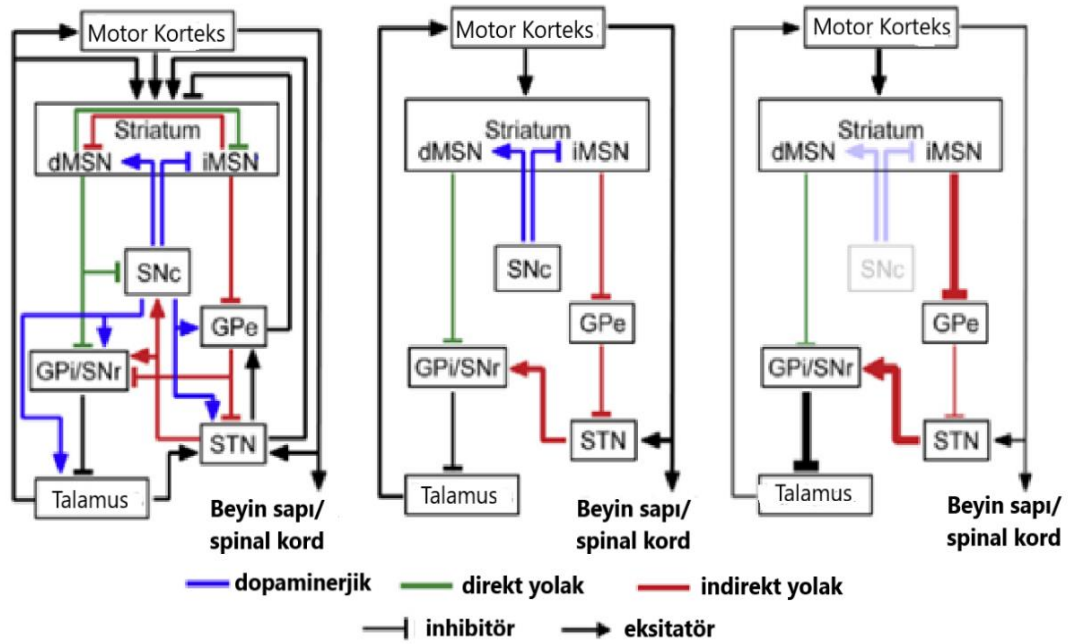


Şekil 2.1. Parkinson patogenezinde etkili olan mekanizmaların şematik gösterimi. Yaşla birlikte tek tek yada multifaktöriyel olarak her bir mekanizma Parkinson hastalığına neden olabilmektedir (29).

2.1.6. Patofizyoloji

Bazal Ganglionik Döngüler: Substansiya nigradaki dopaminerjik nöron kaybına sekonder gelişen dopamin eksikliği bazal gangliyonlarla korteks arasındaki iletişim ana maddesidir. Korteks bazal gangliyon arası direk ve indirek yollar mevcuttur (30). Direk yol kortikal uyarıların striatumu uyarması ve striatumun globus pallidus inetrne (GPI)

üzerindeki inhibitör etkisinin kalması ile GPi'nin talamus üzerindeki inhibitör etkisinin artması ve son olarak talamusu korteks üzerindeki eksitator etkisinin azalması ile oluşan bir döngüye indirekt yolda bu döngüye globus pallidus eksterna (GPe) ve subtalamik nükleus uyuramı da katılır. Sonuçta motor fonksiyonların kortikal uyarımı beyin sapına giden eksitasyon azalacağı için hastanın motor hareketleri yavaşlar. Dopamin striatumda direk yolda aktivator olarak görev yaparken indirekt yol üzerinde inhibitör etkilidir. İndirekt yol yol inhibisyonu ise Gpi inhibisyonu ile thalamus ve korteks inhibisyon etkisini baskılayarak eksitasyonunu sağlar ve hareketin başlamasını sağlar. Bu döngü bozulduğunda hastalar hareketi başlatmakta zorluk çekerler ve 'off fenomeni' adı verilen kliik oluşur. Genel olarak bradikineziden asıl sorumlu döngü indirekt yol patolojisiyle oluşur. Ancak bazal gangliyonların önemli görevlerinden biri de bir hareketin oluşabilmesi için gereken agonist kasılırken antagonistlerin gevşemesini ya da agonist gevşerken antagonist kasılmasını sağlamaktır. Bu düzenlemenin bozulması ile de rijidite oluşmaktadır (31). Bazal ganliyondaki dopaminerjik döngünün normal ve PH hastalarındaki değişiminin diagramı şekil 2.2'de gösterilmektedir.

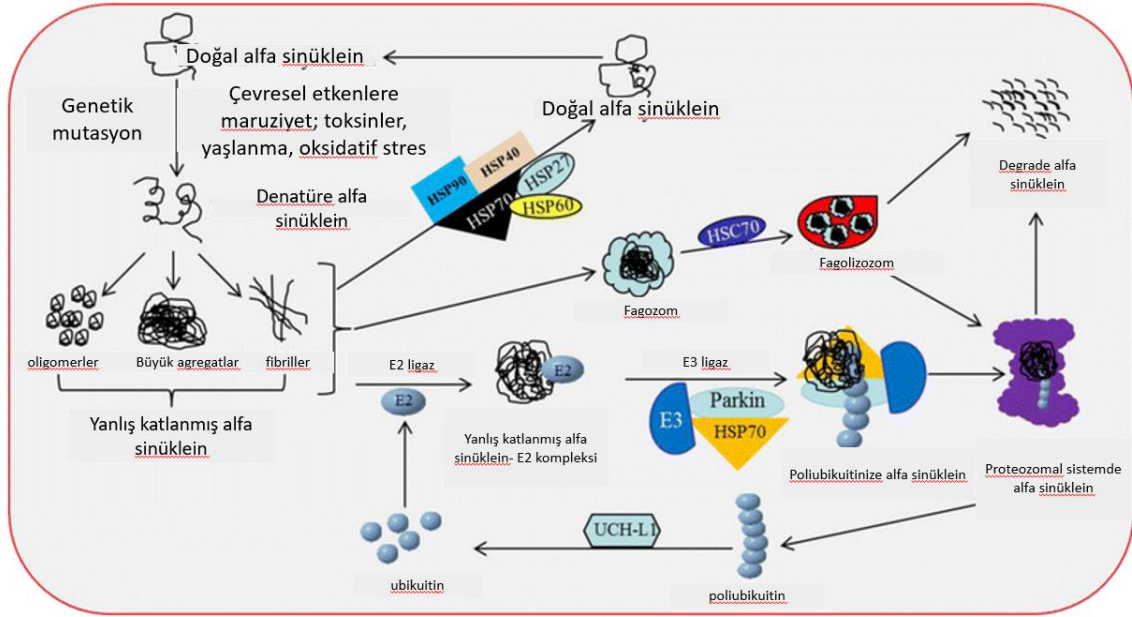


Şekil 2.2. Bazal Gangliyonların Klasik Modeli. Sağlıklı durumda, SNc'den striatuma dopamin, direkt yolu aktive eder ve indirekt yolu inhibe eder. Bu etki GPi çıkışını azaltır, talamus ve korteks üzerindeki inhibisyonu serbest bırakır ve hareketi teşvik eder. Parkinson hastalığında, SNc dopamin kaybı, direkt yolun hipoaktivitesine ve aşırı GPi çıkışına yol açan indirekt yolun hiperaktivitesine neden olur. Sonuç olarak, talamus ve korteksin aşırı inhibisyonu, hareketin baskılanmasına yol açar (30).

Lewy cisimcikleri, alfa sinüklein ve diğer hücre içi inklüzyonlar: PH'de nöron içi inklüzyon cisimcikleri lewy cisimleri ve lewy nöritlerdir. Bu cisimcikler sadece PH'de değil lewy cisimcikli demansta ve multi system atrofide de bulunmaktadır. PH postmortem çalışmalarında bu cisimciklerinin büyük bir kısmının pigmente nöronların olduğu substansiya nigra pars kompaktada olduğu izlenmiştir (32). İnsolubl alfa sinüklein ise bu cisimciklerin ana komponentini oluşturmaktadır. Klasik LB substansiya nigradaki geriye kalmış dopaminerjik nöronlarda bulunan içerisinde her zaman alfa sinüklein ve ubikutinini içeren hiyalin çekirdek ve çevresinde soluk halo bulunan intranöronal yuvarlak eozinofilik inklüzyonlardır (33). Lewy nöritler (LN) LB'nin daha önceki hali olarak değerlendirilmekte ve daha erken evrelerde görüldüğü düşünülmektedir. LN aksonal transport ve diğer önemli hücrenel süreçleri bozmaktadır. Parkinsonda nörodejeneratif sürece neden olan erken ve toksik parçacıklar olan alfa sinükleinin oligomerlerini oluşturan ise alfa sinükleinin prefibrillar formudur.

Alfa sinüklein, 140 amino asitlik küçük bir proteindir ve üç farklı bölgeye ayrılmıştır. Bunlar pozitif yüklü bir N-terminal bölgesi, topaklaşma eğilimi yüksek olan merkezi bir hidrofobik bölge ve yüksek derecede asidik C terminal bölgedir. Daha çok nöronların presinaptik terminallerinde bulunmaktadır ve sinaptik plastisiteyle vesiküler paketlenme ve trafikten sorumludur. Alfa sinükleinin yapılandırılmamış monomerik ve alfa helikal oligomerik hali fibrilizasyona dirençlidir ve sağlıklı nöronlarda bir denge içinde bulunmaktadır. Alfa sinüklein geninde bir missense mutasyon sonucunda bu tetramer/monomer oranı düşmekte ve patojenik süreç başlangıcına neden olmaktadır (34). Çözülebilir oligomerik formun membranları hasarlandırabildiği için çözilemeyen fibril formuna göre PH patogenezinde daha etkin olduğu düşünülmektedir. Alfa sinüklein aynı zamanda histonlarla ve nükleer DNA ile etkileşime girebilmektedir. Selüler fraksiyonlama ve histolojik metodlarla fosforile sinükleinin nöron kültürlerinde yoğun şekilde çekirdekte bulunduğu raporlanmıştır (35). Alfa sinüklein post translasyonel olarak fosforilizasyona, nitrasyona ve DA modifikasyona uğramaktadır. Tüm bu modifikasyonlar oligomerizasyon için risk faktörüdür. Lizozomal temizleme mekanizmalarının disfonksiyonu çözülebilir alfa sinüklein oligomerlerinin artmasına neden olmakta ve PH patogenezinde katkı sağlamaktadır. Bir lizozomal hidrolaz olan GBA geninin heterozigot mutasyonu ile PH riskinin %7 arttığı ve darmokolojik ya da genetik glukoserebrozidaz inhibisyonunun çözilemeyen alfa sinüklein agregatlarını

arttırdığı bildirilmiştir (36, 37). Alfa sinükleinin hücre içi formlarının ve yanlış katlanma yollarının şematik gösterimi şekil 2.3’de özetlenmektedir.



Şekil 2.3. Alfa sinükleinin hücre içi formlarının ve döngüsünün şematik gösterimi (1).

Alfa sinüklein degradasyonunda ubikuitinin proteosomal sistem (UPS) ve otofaji lizozomal sistem (ALS) gibi çeşitli proteolitik sistemler katkı sağlamaktadır. UPS kısa ömürlü çözünebilen proteinlerden sorumluyken ALS uzun ömürlü makromoleküller, sitozolik komponentler ve disfonksiyone organel degradasyonundan sorumludur. Alfa sinüklein turnoverında ve metabolizmasında asıl etkili yol ise hücrel strese cevaben up regüle olan otofaji türü olan şaperon aracılı otofajidir (ŞAO). Şaperonlar ŞAO sinyal yolağını aktive etmek için lizozom ilişkili membran proteini 2A (LAMP2A) reseptörü aracılığıyla uyarmaktadırlar. Parkinson hastalarının beyinlerinde SN’de LAMP2A’nın ekspresyonunun önemli derecede azaldığı gösterilmiştir (38). Alfa sinüklein ayrıca mitokondri ile ilişkilidir. Mitokondrinin dış membranına bağlanır. Alfa sinüklein mitokondrial fizyon sürecini etkileyerek mitokondriyal fonksiyonu bozabilmektedir. Son olarak alfa sinükleinin mikrotübül fonksiyonlarını bozarak sitoskeletal fonksiyonları etkileyerek transportu bozduğu gösterilmiştir (39).

Diğer hücre içi inklüzyonlardan biri de taudur. Tau hiperfosforilasyonu nörofibriller yumak denen helical filamental taunun oluşumuna neden olur. Asıl olarak Alzheimer, parkinsonizmle giden frontotemporal demans ve progresif supranükleer palsi hastalıklarının patogenetik cisimcikleri olsalar da içerisindeki p-tau lewy cisimciğinde de bulunmaktadır ve sporadic parkison gelişimiyle ilişkilidir. P-tau aynı

zamanda LRRK2 gen mutasyonu ile de ilişkilidir. Ayrıca nörofibriller yumaklar alfa sinüklein ve lewy cisimcikleriyle beraber lokalize olup dopaminerjik nöronal mimarinin destabilizasyonunda önemli rol alabilmektedir (40).

2.2. Hücre Dejenerasyonunun Ana Mekanizmaları

2.2.1. Protein Yanlış Katlanma, Aggregasyon ve Toksisitesi

Endoplazmik retikulum stresi: endoplazmik retikulum proteinlerin neredeyse üçte birinin sentezlenmesini katlanmasının ve post-traslasyonel modifikasyonun (PTM) kontrol edildiği hücresel organeldir. Düz ER ve ribozomal ER olmak üzere ikiye ayrılır. Düz ER lipid ve karbonhidratları sentezine dahilken ribozomal ER sekrete edilen proteinlerin ve membranların sentezine dahildir. Son zamanlardaki yeni sınıflamada ER nükleer zarf, sisterne ve tübüler interkonnekted ağdan oluşmaktadır. ER'nin mitokondri plasma membranı endosom ve endolizozomal sistem ile etkileşimi vardır. Mitokondri ile etkileşimini mitokondri ilişkili membran (MAM) ile sağlamaktadır (41).

ER fonksiyonları lipidlerin sentez ve depolanması, proteinlerin sentez depolanma ve salınımı kalsiyum homeostazisi ve glukoz metabolizmasıdır. Hücre içi serbest ve membran içi kalsiyum dengesini sağlayarak kalsiyum metabolizmasında anahtar rol oynamaktadır (42).

ER fonksiyonlarının en önemlisi proteinlerin translasyonel ve posttranslasyonel olarak düzenlenmesidir. Şaperonların bu katlanma sürecinde çok önemli rolleri vardır. Bunlardan en önemlileri ısı şoku proteinler (HSP), ve lektinlerdir. Bu modifikasyonların en önemlisi sinyal peptidinin sinyal sekans peptidaz kompleksi ile kesilmesidir. N bağımlı glikozilasyon disülfid bağlarının formasyonu pro-izomerizasyon ve oligomerizasyondur. Bir diğer önemli protein katlanma süreci de ko-translasyonel oligosakkarit eklenmesidir. Bu modifikasyonla sekrete edilecek proteinler düzenlenir

Bu mekanizmalara rağmen protein yanlış katlandıysa proteini yıkımını gerçekleştirmek üzere ER ilişkili degradasyon ve otofaji alt dalı olan retikülofaji yolağı aktive olur. Yanlış katlanmış proteinlerin ER'de belli bir seviyenin üzerine çıkması nedeniyle ER stresi adı verilen sinyalizasyon aktivasyonu gerçekleşir (43).

ER yanlış katlanmış protein cevabı: kalsiyum seviyesinin alterasyonu, oksidatif stres varlığı ve n glikolizasyon disfonksiyonu ER stresi tetikleyebilir. ER stres protein

yanlış katlanmasını azaltarak ER fonksiyonlarını normalleştirmeye çalışan adaptif bir sinyalizasyondur. Amaç protein sentezini yavaşlatmak, şaperon sentezini arttırarak yanlış katlanmayı düzeltmek ve düzeltilemeyen yanlış katlanmış proteinlerin yıkımını sağlamaktır. ER stresi bu amaçları gerçekleştirmek üzere 3 ana sinyal yolağını kullanır. Bunlar inositol gerektiren enzim 1 (IRE1), protein kinaz RNA benzeri ER kinaz (PERK) ve aktive edici transkripsiyon faktörü 6'dır (ATF6). İmmunoglobulin Bağlayan protein (BiP) şaperonu sayesinde stres yokluğunda bu yolakların sensorleri inaktive tutulur (44).

PERK sinyal yolağı: ana görevi protein sentezinin azaltılmasını sağlamaktır. Ökaryotik transkripsiyon başlatıcı faktör 2'yi (EİF2alfa) fosforilleyen serin treonin kinaz görevi. BiP'in PERK'ten ayrılmasıyla önce kendini otofosforiller ve aktive olmuş EİF2alfa'nın serin bölgesinden fosforilleyerek inaktive eder. Bu inaktivasyonla protein translasyonunu azaltır. Taşıyıcı RNA'nın 40s ribozomla birleşmesinin tRNA'ya bağlanarak gerçekleştirir (45).

ER stres durumunda inaktive olmuş EİF2alfa ATF4'ün aktive olmasını sağlar. ATF4 bünyesinde birçok açık okuma çerçeveleri (ORF) içeren bir transkripsiyon faktörüdür. Bu ORF'ler ile daha verimli ATF4 oluşturulur. ATF4 sentezlendikten sonra nukleusa giderek CARE'e bağlanır ve antioksidan cevabı kontrol altına tutabilecek proteinlerin sentezi başlatılır. PERK ayrıca direk olarak nukleer eritroid faktör 2 ilişkili faktör 2 fosforilasyonunu sağlayarak antioksidan cevapla ilişkili genlerin regülasyonunu da sağlamaktadır (46).

Son olarak PERK apoptotik cevabın da mediatörüdür. Akut stres sırasında ER stres herşeye rağmen devam ederse PERK yolağı bazı pre apoptotic faktörleri modüle eder. Bu modülasyola hücre dejenerasyonu ve ölümü tetiklenir. Ayrıca PERK C/EBP homolog proteini (CHOP) transaktivasyonunu indükler. CHOP B hücreli lenfoma (BCL) ailesindeki antiapoptotiklerin azalmasına proapoptotiklerin artmasına neden olarak hücre ölümde görev yapar. CHOP ayrıca glutatyanu azaltarak büyüme durması ve DNA hasarı indüklenebilir protein artmasına ve dolaylı olarak EİF2alfanın defosforile olarak inhibe olmasına neden olur. Aşırı uyarılmış PERK ayrıca serbest oksijen radikallerinin artmasına neden olmaktadır (47).

ATF6: ER stress koşulunda BiP ATF6'dan ayrılmasıyla ATF6 golgi içine gider ve kesilerek sitozolik ATF6f oluşturulur. Sitolik ATF6f ER şaperonlarının ve ERAD'ın transkripsiyonunu upregüle eder. ATF6'nın en önemli hedefleri BiP,

Glukozla düzenlenen protein 94 ve kalneksindir. ATF6'nın alt birimi olan ATFalfa aynı zamanda siklik AMP'ye cevap veren elementi bağlayan protein (CREB), CREB3L3, nükleer transkripsiyon faktörü Y (NF-Y), yin yang 1 ve X kutusu bağlayıcı protein 1 (XBP1) ile de etkileşir. ATF6alfa XBP1 ile sinerjik olarak ERAD üyelerini transkripsiyon stimülasyonu yapar.

IRE1 (Inositol-Requiring Enzyme 1): bu sinyal yolağının active olması PERK yolağı ile benzer şekilde gerçekleşir. BiP'ten ayrılmasıyla IRE1 dimerize olur ve otofosforilasyon ile aktivasyonunu sağlar. IRE1'in kendi endoribonükleaz aktivitesi vardır. Bu aktivite ile XBP1 mRNA'sının endonükleotik kesimine neden olur. Bu nedenle, XBP1'in mRNA'sındaki 26 nükleotidin (intron) eksizyonu, mRNA'nın translasyonu sırasında okuma çerçevesinde bir kaymaya neden olur ve bu, protein XBP1'de yeni bir karboksil alanı sunar. Bu kesim işlemi nükleusta değil çekirdekte olduğu için spliceozom tarafından kullanılan konsensüs dizilerini gerektirmez. Stabil ve aktif XBP1 oluşmuş olur. Bu XBP1 ER stres koşulları altında, ER'de katlanma, salgılama, ERAD, protein translokasyonu ve lipid sentezini modüle eden faktörlerin ekspresyonunu kontrol eder.

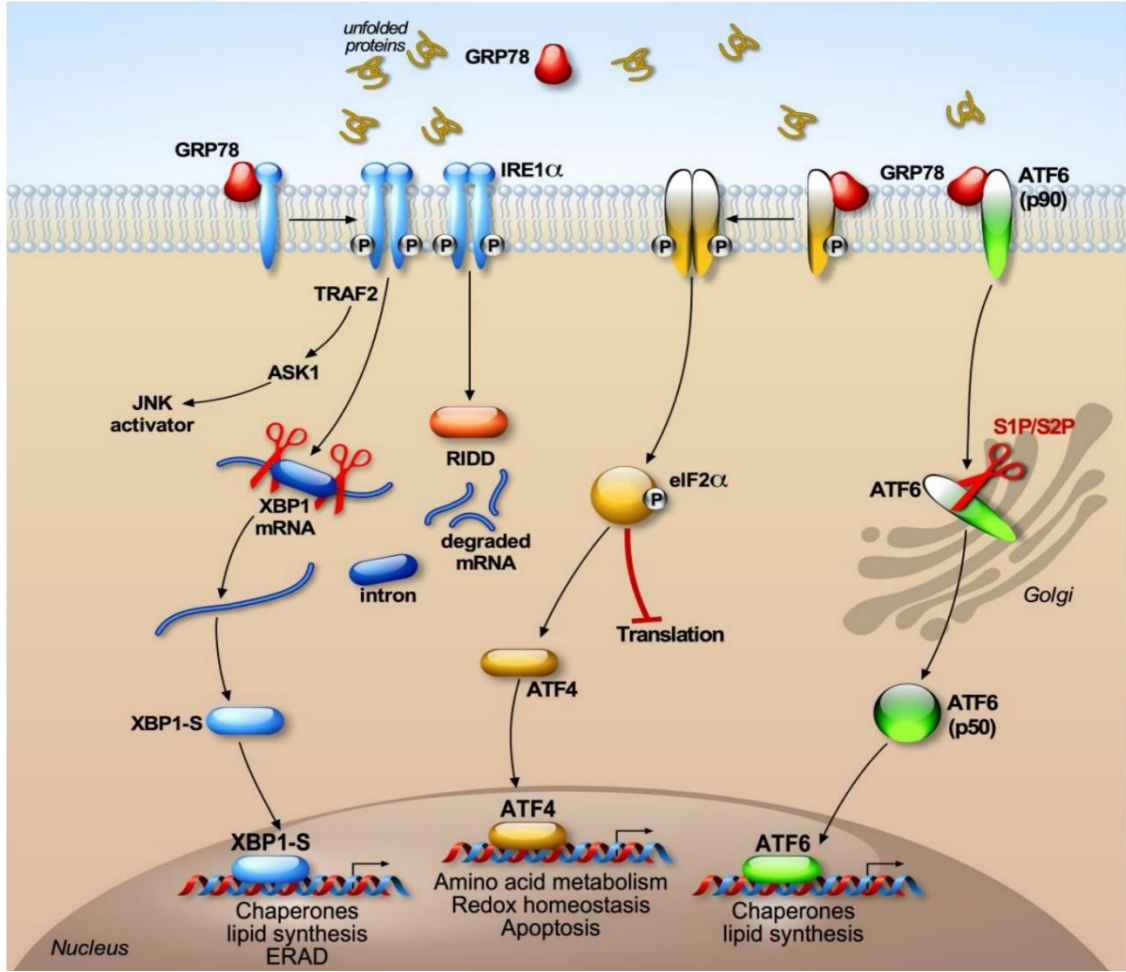
XBP1 dışında da IRE1 endonükleazı sinyal peptide ve spesifik sekonder yapı gerektirmeksizin protein sentezini azaltabilmek için bazı mRNA'ların degrade olmasını sağlar. Hatta kendi mRNA'sını bile kendi aktivasyonunu kontrol etmek için degrade edebilir.

IRE yolağı genel olarak hücrel yaşamı sağlayan bir sinyal yolağı olsa da bazı koşullar varlığında hücrel ölümü tetikleyebilir. TRAF2 (TNF receptor-associated factor 2) aracılığıyla ASK1 (apoptosis signal-regulating kinase 1) ve dolayısıyla Jun N terminal kinaz (JNK) hedeflerini aktive eder. Aktive JNK ise BCL-2 üzerinden anti-pro apoptotik dengenin bozulmasına neden olarak apoptozu indükler.

Sonuç olarak ER stress adaptif olduğunda hücrel yaşamı koruyan regülasyonları sağlasa da uzamış stress altında apoptotik ER stress sinyalizasyonu ile hücrel ölüm gerçekleştirilebilir (48).

PH patolojisi ile ER stress ilişkisi pek çok çalışma ile desteklenmektedir. İlk çalışmalardan biri olan Hoozemans ve arkadaşları postmortem PH hastalarının beyinde kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı derecede phospho-PERK and

phospho-EIF2 α proteinlerinin artmış olduğunu göstermişlerdir (49). ER stress sinyalizasyon yolları şekil 2.4’de özetlenmektedir.



Şekil 2.4. ER stress sinyal yollarını gösteren şematik gösterim. Yanlış katlanmış proteinler normalden yüksek olduğunda protein sentezi yavaşlatılır, şaperonlar aktive edilir, lipid sentezi artırılır. Katlanma problem çözülemezse ERAD ile protein yıkılır ya da hücre apoptoza gider (48).

2.2.2. Proteoliz Defekti

Endoplazmik retikulum ilişkili degradasyon: hücrede potansiyel zararlı parçaların uzaklaştırılması için gelişmiş bir kalite kontrol mekanizmasıdır. Tam katlanmış ve fonksiyonel olarak aktif olan proteinler bile spesifik geri besleme sinyallerinin varlığında ERAD tarafından yıkılabilirler. ER lümenindeki yanlış katlanmış protein E3 ligaz kompleksi tarafından tanınır, bu ER membran proteininden geçerken ubiquitinize edilir. Ubikutinize edilmiş yanlış katlanmış protein ise sitoplazmadaki proteozoma yönlendirilerek lizise uğratılır. Proteinin yanlış katlanmış kısmı ER lümenin içinde, ER

membranına bağlı proteinin mambran içinde ya da ER lümenine bakan kısmındaysa Hrd1 kompleksi ile tanınarak ubikütinize edilir. Bu ERAD sistemine ERAD-L ve ERAD-M denir. Eğer ER membranındaki proteinin sızoluk kısmında yanlış katlanma varsa bu sefer Doa10 kompleksi tarafından tanınarak degrade edilmek üzere proteozoma yönlendirilir. Bu system ise ERAD-C olarak adlandırılır (50).

2.2.3. Otofaji

Otofaji izole sitozolik materyallerin çift membranlı bir vezikül içerisinde lizozoma taşınarak degradasyonunu sağlayan bir yolaktır. Değişik hücreyel organellerin turnoverında görev alan değişik otofaji formları tanımlanmıştır. Nörodejeneratif hastalıklarda üç ana otofaji düzensizliği gözlenmiştir: (1) yetersiz otofaji aktivasyonu, (2) azalmış lizozomal fonksiyona bağlı otofaji disfonksiyon ve (3) otofajinin patolojik aktivasyonu ile ilgili otofajik stres. Genel olarak otofaji nöroprotektif rol oynamaktadır (51).

Bununla ilişkili yaklaşık otuzdan fazla gen tanımlanmıştır. Makrotofaji, mikrotofaji ve şaperon ilişkili otofaji olmak üzere 3 ana formu bulunmaktadır. Makrotofaji selüler substratların lizozomal degradasyon amaçlı otofagozom ile temizlenmesidir. Mikrotofajide ise lizozomal yada vakuolar membranlar sitozolik parçacıkları degrade etmek üzere invajinasyonlarla otofajik tüp oluştururlar. Şaperon aracılı otofajide ise ısı şoku kompleksi 70 ile yanlış katlanmış proteinler çözülerek LAMP2A lizozomal membran reseptörü aracılığıyla lizozoma aktarılır (52).

Nöronal otofaji, sinaptik plastisite, glial hücrelerde anti-inflamatuar fonksiyon, oligodendrosit gelişimi ve miyelinsasyon süreci için gereklidir. Nöronlar post mitotik hücreler olduğundan aggregasyona yatkın proteinler hücre bölünmesiyle seyreltilemez. Dolayısıyla nöronlarda UPR ve otofaji gibi iyi regüle edilmiş protein kalite kontrol sistemlerinin bulunması gerekmektedir. Otofaji fonksiyon bozuklukları özellikle Alzheimer, Parkinson, Hungtinton, multiple skleroz ve amiyotrofik lateral skleroz gibi hastalıkların patolojisinde yer almaktadır (53).

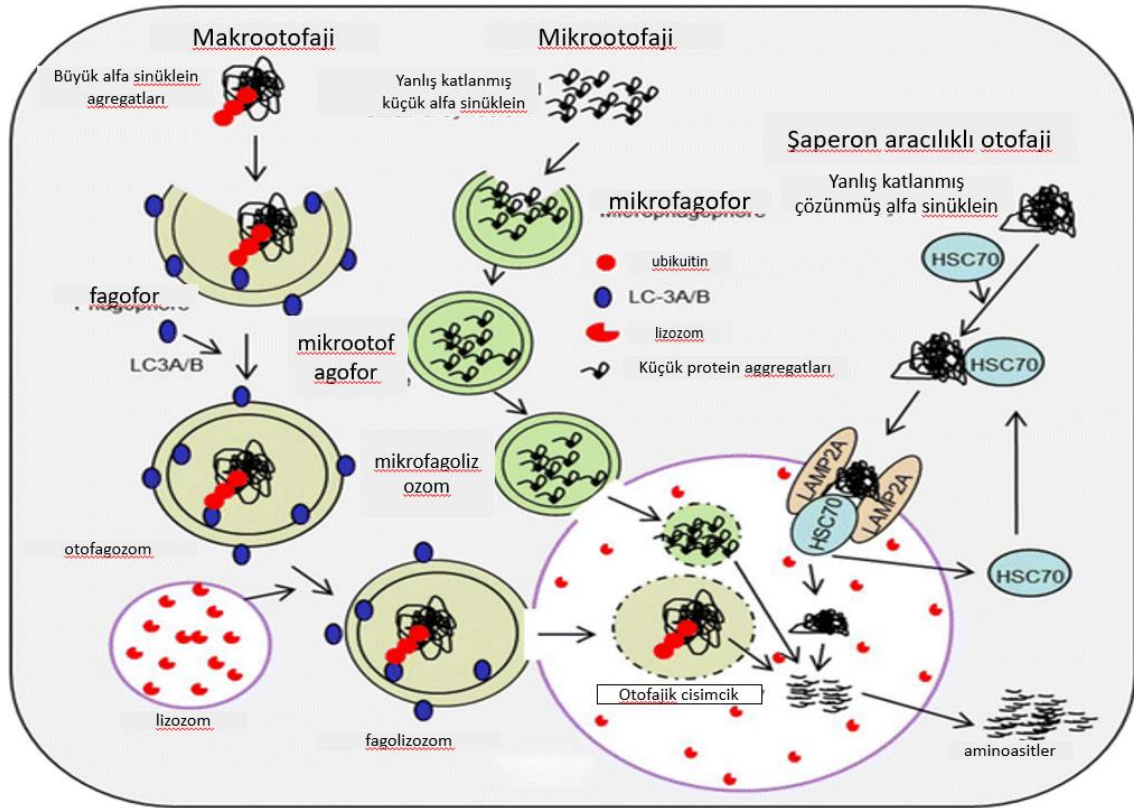
Son çalışmalar, deübikitine edilmiş SNCA'nın esas olarak otofaji tarafından degrade edildiği, monoubikitine SNCA'nın ise tercihen proteazom tarafından uzaklaştırıldığını göstermektedir (54). SNCA aynı zamanda HSP 70 tarafından tanınarak ŞAO tarafından lizozomal yıkıma uğrattılır. Fakat SNCA'nın patojenik

formları LAMP2A'ya bağlanabilse de lizozoma transloke olamadıkları için aggrega olurlar (54).

Birkaç rapor, LRRK2'nin makrotofajiyi düzenleyebileceğini belirtti. LRRK2 knockdown, açlık koşulları altında otofajik akışı artırır ve LRRK2 kinaz aktivitesinin inhibisyonu, Rapamisin kinaz kompleksi T'nin hedefinde herhangi bir değişiklik olmadığında makrotofajiyi uyarır. Bu nedenle LRRK2 gen mutasyonu ya da epigenetik düzenleme ile hipermetilasyonuna sekonder ekspresyonunun azalması ile makrotofaji bozulacaktır. Mitokondri depolarizasyonu sonucu mitokondrinin dış membranındaki PNK1 akümülyasyonunu tetikler. Bu akümülyasyon parkinin mtk membranında bazı proteinlerle birleşmesine ve ubikutinize olmasına yardımcı olarak hasarlanmış mitokondrinin mitofaji ile yıkılmasını tetikler. Yani parkin hasarlanmış mitokondrinin mitofaji yoluyla temizlenmesine yardım eden bir gen dir ve genetik mutasyona ya da epigenetik hipermetilasyona sekonder hasarlanırsa mitofaji bozulacağından mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna oksidatif strese ve hücre sel apoptoza neden olabilir. Son olarak oksidatif stresin PH patogenezinde rol aldığı bilindiğinden ve otofajinin oksidatif stresi azalttığı bilindiğinden otofaji fonksiyon bozukluklarında oksidatif stres artacağından otofaji disfonksiyonunun da PH patogenezinde katkı sağlayacağı söylenebilir (55).

Tüm bu veriler değerlendirildiğinde Bazal otofaji düzeyini arttıracak tedavi yöntemlerinin PH 'de etkili olabileceği düşünülmüştür. Bu hipotezi destekleyecek pek çok çalışma yapılmıştır. Beklin 1, ras ilişkili protein 1A, Histon deasetilaz 6, transkripsiyon faktörü EB (TFEB) gibi otofaji ilişkili genlerle çalışılan PH modellerinde nörodejenerasyonda iyileşmeler izlenmiştir (56-58).

Parkinson hastalığı olanların beyinlerinde mTOR ve fosfoinositol 3 kinaz / AKT sinyalizasyonu gibi otofaji ile ilgili bazı sinyal yollarının ciddi şekilde etkilendiği gösterilmiştir. Dahası rapamisin ya da metformin kullanılarak farmakolojik olarak indükte edilen PP2A hücre serisinde alfa sinükleinin azaldığı gösterilmiştir (59). Otofaji formlarının alfa sinükleinin degradasyonundaki rolü şekil 2.5'de gösterilmektedir.

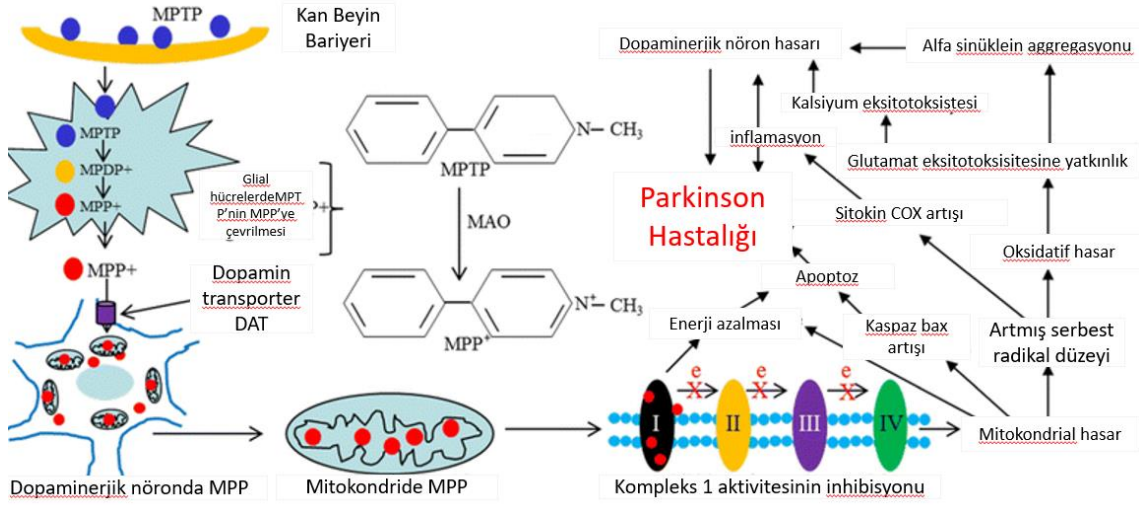


Şekil 2.5. Otofaji formları ve alfa sinüklein agregatlarının otofajik degradasyonunun şematik gösterimi. Makrotofajibüyük alfa sinüklein agregatlarını temizlerken mikrotofaji yanlış katlanmış küçük alfa sinükleinleri ve şaperon aracılı otofaji katlanmamış çözünebilir alfa sinükleinlerin uzaklaştırılmasında görevlidir (1).

2.2.4. Mitokondrial Disfonksiyon

Nöronlarda çoğu ATP oksidatif fosforilasyondan elde edildiği için nöronların yüksek enerji ihtiyaçları bulunmaktadır. Bu nedenle çok sayıda fonksiyonel mitokondriye gereksinim duymaktadırlar. Mitokondriyal fisyon, füzyon, taşıma, otofajik bozulma (mitofaji) ve biyogenez içeren mitokondriyal dinamikler, hücrel sağlık için gereklidir. Mitokondriyal dinamiklerin düzensizliği, nöronal disfonksiyon ve PH ile ilişkilendirilmiştir. PH hastalarında fibriller oligomerik alfa sinükleine sekonder kompleks 1 inhibisyonu mevcuttur. Dopamin ve serotonin gibi beyindeki monoaminler antioksidan gibi davranırlar. Oksidatif strese maruz kalmış PH'li farelerin SNpc'de dopaminerjik nöronlarda apoptotik marker olan bax saptanmıştır (60). PH'li hastalardan elde edilen mitokondrial DNA'ları nöroblastoma hücrelerine verdiklerinde o hücrelerde de PH hastalarında ki gibi patolojik değişiklikler olduğunu

gözlemlemiştir (61). PH patogeneğinde mitokondriyal fonksiyonun yeri şekil 2.6'da gösterilmektedir.



Şekil 2.6. MPTP ile oluşturulmuş Parkinson modelinde mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun şematik gösterimi (1).

2.3. Epigenetik Mekanizmalar

Sadece gendeki cis elementleri (zenginleştirici ve susturucu alanların varlığı vs) ve transkripsiyon faktörlerinin varlığı gen ekspresyonunu düzenleyen faktörler değildir. Epigenetik olarak da gen ekspresyonunun düzenlenebildiği artık kabul edilen bir gerçektir. Nükleozomlar, kromatinin temel birimidir ve çekirdek histon proteinleri H2A, H2B, H3 ve H4'ün bir oktamerinin etrafına sarılmış 146 bp'lik bir genomik DNA uzantısından oluşur. Histon oktamerleri, nükleozomlar arasındaki bölgeyi kapsayan bağlayıcı DNA ve bağlayıcı DNA'ya bağlanan ve onu stabilize eden bağlayıcı histonlar ile birbirine bağlanır. DNA ve histon modifikasyonları, nükleozom konumlandırmasındaki değişiklikler, histon varyantları, mikroRNA'lar ve uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar), kromatin yeniden modellemesinin altında yatan temel epigenetik mekanizmaları oluşturur (62).

2.3.1. DNA Metilasyonu

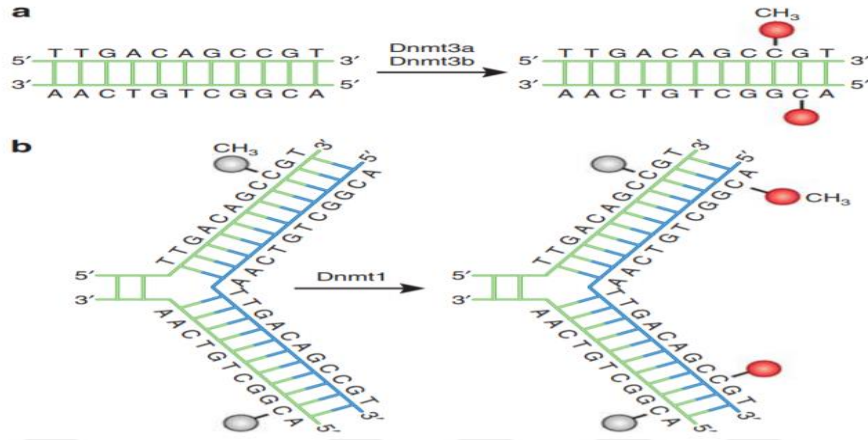
Erken gelişimsel süreçte genetik duyarlılıkla çevresel etkileşimi birleştiren ana mekanizma DNA metilasyonu olmuştur. Memeli genomundaki intergenik bölgelerin büyük bir kısmı (DNA sekansının % 95'ini oluşturur), DNA metilasyonu ile etkili bir şekilde bastırılan transpoze olabilen kısımlardan ve viral elementlerden oluşur. Ek

olarak, hücreye özgü DNA metilasyon modelleri, genetik olarak aynı hücrelerin geniş fonksiyonel çeşitliliğini sağlamaktadır. Ökaryotik hücrelerdeki DNA metilasyonu C5 pozisyonundaki guaninin takip ettiği sitozinlerde gerçekleşir. Bu bölgeler metillenmiş CpG dinükleotidleri olarak adlandırılır. En tipik CpG metillenme ile DNA genetik ekspresyonu susturulan kromozom örneği ise dişi insanlarda bir X kromozomunu inaktive eden kovalent epigenetik modifikasyondur. Ancak her zaman metilasyon gen susturmak için yapılmamaktadır. DNA metilasyonunu oluşturan, tanıyan ve ortadan kaldıran enzimler üç sınıfa ayrılır: yazarlar, silgiler ve okuyucular. Yazarlar, metil gruplarının sitozin kalıntılarına eklenmesini katalize eden enzimlerdir. Silgiler metil grubunu değiştirir ve kaldırır. Okuyucular, nihayetinde gen ekspresyonunu etkilemek için metil gruplarını tanır ve bunlara bağlanır. DNA metilasyonunun etkisi, CpG'nin konumuna ve dizi içeriğine bağlıdır. Komşu CpG'lerin sekans bağlamına ve metilasyon durumuna bağlı olarak ekspresyon düzenlemesini farklı şekillerde etkileyebilmektedir. Genlerin başlarındaki promoter bölgelerinde CpG adası olarak adlandırılan CpG zengin alanlar bulunmaktadır. Bu bölgeler genellikle metile değildir. Eğer metilli ise polimerazların ve transkripsiyon faktörlerinin bağlanması engellenmektedir. Sadece promoter bölgelerde değil exonlarda da metilasyon olabilir ve metilasyon ile exonlar alternative birleşmeye uğrayabilmektedirler.

DNA metilasyonu, temel metil donörü olarak bir DNA metiltransferaz (DNMT) ve S-adenosilmetiyonin (SAM) gerektirir. Çeşitli metiltransferazlar tanımlanmıştır. Bunlar DNMT 1, 2, 3a ve 3b'dir. DNMT1, oksidatif stres koşulları altında, SAM olmadığında ve yüksek hücre içi kalsiyum seviyelerinin olduğu durumlarda hidroksi metilaz olarak hareket edebilir ve demetilasyonla gen transkripsiyonunu arttırabilir. Embryonik dönemde DNMT'lerin eliminasyonu hayatla bağdaşmamaktadır ve belirli gelişimsel evrelerde DNMT'lerin bloklanması kognitif fonksiyonları bozmaktadır. Promoter bölgelerindeki DNA metilasyonu sadece TF'nin bağlanmasını bozmakla kalmaz, aynı zamanda MSS'de bol miktarda bulunan en az üç yüksek afiniteli metil bağlayıcı protein sınıfı için de önemlidir. Özellikle ön beyinde sinir hücrelerinin hayatı boyunca değişik gen ekspresyonlarının sağlanabilmesi için metilasyonda artma ve azalmalara uğramaktadır.

2010 yılına kadar gen ekspresyon regülasyonunda aktif demetilasyon tanımlanmamıştı ancak son yıllarda 10-11 translokasyon enziminin (TET1-2-3) genom boyunca tekrar programlamada epigenetic düzenlemede görev aldığı gösterilmiştir.

Bunlardan bir tanesi 5-jidroksimetilsitozindir (5hmC). Beyinde yaşlanma nörodejenerasyonun marker olarak önemi giderek artmaktadır (63). DNA metilasyonunda DNA metiltransferazın rolü şekil 2.7'de gösterilmektedir.



Şekil 2.7. DNA metilasyonunda DNA metiltransferazların rolünün şematik gösterimi (63).

DNA metilasyonu, transkripsiyonu düzenlemek için histon modifikasyonları ve mikroRNA (miRNA) ile çalışır. Ökaryotlarda DNA, uzun DNA ipliklerini küçük nükleer bölmeye paketlemeye yardımcı olan histon proteinleriyle ilişkilidir. Histonlarla DNA birleşmesi genellikle transkripsiyon için izin veren bir ortam sağlarken, DNA ve histonları sıkıca paketleyen histon modifikasyonları gen ekspresyonunu bastırır. Dnmts, tipik olarak gen baskılamasında yer alan histon modifikasyonlarını düzenleyen enzimlerle doğrudan etkileşime girer. Dnmt1 ve Dnmt3b, DNA paketini daha sıkı hale getirmek ve transkripsiyon için erişimi kısıtlamak için histonlardan asetilasyonu kaldıran histon deasetilazlara bağlanabilir. DNA metilasyonu ayrıca miRNA'ların ekspresyonunu da düzenleyebilir.

2.3.2. Diğer Epigenetik Mekanizmalar

Histon modifikasyonu ve miRNA'lar diğer epigenetik mekanizmaların ana bileşenleridir. Histonlar, DNA'yı gen transkripsiyonuna izin veren bir konformasyon olan ökromatine veya gen transkripsiyonunu bloke eden yoğun bir yapı olan heterokromatine düzenlemekten sorumlu olan nükleer proteinlerdir. Her histonun merkezi bir alanı ve asetilasyon metilasyonu, fosforilasyon, ubikitilasyon, sumoilasyon, deaminasyon ve poli (ADP) ribosilasyon dahil olmak üzere 100'den fazla posttranslasyonel modifikasyon için alanlar içeren birkaç yapılandırılmamış amino

terminal kuyruğu vardır. Bu belirteçler yazıcılar olarak bilinen kromozom tekrar modelleme enzimleri (histon metiltransferaz) tarafından eklenir. Bu eklemenin olduğu bölgeye bağlı olarak gen susturuluyor ya da ekspresyonu artırılıyor olabilir. Yazıcı eğer histon asetilleme yapıyorsa her zaman gen ekspresyonunu arttırmaya yönelik işlev görür. Siliciler adı verilen enzimlerce (histon demetilaz) de çıkarılır. Çekirdek histon proteinlerinin farklı, bölgeye özgü post-translasyonel modifikasyonları, "okuyucular" olarak bilinen proteinler tarafından tanınan bir "histon kodu" oluşturmak için sıralı veya kombinatoriyal olarak hareket eder. Okuyucular, özel motifler aracılığıyla çekirdek histonlar üzerindeki epigenetik işaretleri tanır ve böylece hedef genlerin promotörlerine dahil edilir (64).

MikroRNA'lar ise protein oluşturmayan, ancak birden fazla mekanizma yoluyla gen ekspresyonunu değiştirebilen küçük kodlamayan RNA'lardır. MiRNA'lar mRNA'nın 3' translyona uğramayan kısmına bağlanarak mRNA'nın proteine translyasyonunu engelleyerek mRNA'nın degradasyonuna neden olur ve direk olmasa da gen ekspresyonunu etkiler. Şimdiye kadar 5000'den fazla spesifik bölgeye bağlanarak gen ekspresyonunu değiştiren miRNA tanımlanmıştır. Ayrıca tek miRNA 1000'den fazla mRNA'yı etkileyebilmektedir (65).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Araştırmanın Genel Özellikleri

Bu araştırma prospektif kesitsel klinik kontrollü bir çalışmadır. Araştırmanın etik onayı Malatya Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2020/05 protokol numarası ile alınmıştır. Proje desteği ise İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi Birimi tarafından Eylül 2020 tarihinde 2263 proje numarası ile verilmiştir.

3.2. Uygulama Alanı ve Örneklem Seçimi

Mayıs 2020 tarihinde etik kurul onayı alındıktan sonra İnönü Üniversitesi ve Malatya Eğitim Araştırma Hastanesi Nöroloji Polikliniğine başvuran, Hareket bozuklukları Derneği tarafından belirlenen Parkinson tanı kriterlerini ve aşağıdaki dahil edilme ve dışlama kriterlerini karşılayan hastalar araştırmaya dahil edildi. İstatistiksel power analiz ile mevcut literatürde Parkinsonda DNA metilasyon çalışmalarının verilerine dayanılarak elde edilmiş etki büyüklüğü 0.42 olmak koşuluyla çalışmaya en az 45 toplam katılımcı dahil edilmesi gerektiği belirlenmiştir. Bu nedenle toplamda 45 olacak şekilde grup sayıları birbirine yakın tutmak amacı ile hasta grubu 25 Parkinson hastası ve aynı yaş grubunda herhangi bir hastalığı olmayan 20 sağlıklı birey kontrol grubu olarak belirlendi. Hastalara araştırma ile ilgili bilgilendirildikten sonra araştırmaya katılmayı kabul ettiklerine dair bilgilendirilmiş gönüllü olur formları imzalatıldı. Ayrıca aynı yaş ve cinsiyetteki gönüllü katılımcılara da araştırma hakkında bilgi verildikten sonra olur formu imzaları alındıktan sonra gönüllüler kontrol grubu olarak çalışmaya alındı.

3.3. Dahil Edilme ve Dışlama Kriterleri

Hasta grubunun dahil edilme kriterleri şunlardır:

- Parkinson tanısı Hareket Bozuklukları Topluluğunun 2015'de yayınladıkları PH'de klinik tanı kriterlerini karşılayan hastalar PH olarak değerlendirildi. Diyabeti olmayan PH tanısı almış hastaların olması
- 50-75 yaş arasında olması
- Ek nörodejeneratif ve ER stres ilişkili hastalık öyküsü olmaması
- Hastalık semptomunun 65 yaş öncesinde başlamış olması

Hasta grubunun dışlama kriterleri

- Ek nörodejeneratif hastalığı olması
- ER stress ilişkili olan diyabet, bypass geçirme ve kanser öyküsü olmak
- 50 yaş altı ve 75 yaş üstü olmak
- Hastalık semptomunun 65 yaş sonrasında başlamış olması

Kontrol grubunun dahil edilme kriterleri

- Parkinson ve ER stress ile ilişkili hastalığı olmaması
- 50-75 yaş arasında olması

Kriterleri karşılayan hastaların ve Kontrol grubunun demografik verileri kaydedildi. Hastaların özgeçmişleri ayrıntılı sorgulandıktan sonra kullandığı ilaçlar kaydedildi. Nörolojik muayeneleri yapıldı. Beach ve arkadaşlarının 2009 yılında çoğu LB ilişkili hastalıklarda motor disfonksiyon, kognitif kötüleşme ve nigrostriatal dejenerasyonla korelasyon gösterebilecek modifiye kriterler oluşturdukları bilinmektedir. Parkinson patolojisini 1- olfaktöre sınırlı, 2a- beyinsapı baskın, 2b- limbik predominant, 3-beyinsapı ve limbik tutulum, 4- neokortikal olarak sınıflamışlardır. Bu modifiye kriterler ise minimal test, Birleşik Parkinson Hastalığı Değerlendirme Ölçeği (BPHDÖ), Hoehn ve Yahr Skalası (H&Y), Schwab İngiliz Günlük Yaşam Aktivitesi ve Minimal Durum Değerlendirmesi (MMDD) kullanılarak ortaya çıkarılmıştır ve Parkinson patolojisi ile korele oldukları belirtilmiştir (66). Araştırmamızda Parkinson hastalarının klinik özelliklerini belirlemek ve benzer klinik özellikleri olan hastaları çalışmaya dahil etmek amacıyla gönüllü olan hastalara Birleşik Parkinson Hastalığı Değerlendirme Ölçeği, Modifiye Hoehn-Yahr Evrelemesi, Mini Mental Durum Değerlendirmesi, Epworth Uykululuk ölçeği (EUÖ), Geriyatrik Depresyon Ölçeği (GDÖ) ve Schwab ve İngiltere Günlük Yaşam Aktiviteleri Ölçeği (SİGYA) protokollerine uygun şekilde yapılmıştır.

3.4. Uygulanan Anketler

3.4.1. Birleşik Parkinson Hastalığı Değerlendirme Ölçeği,

Parkinson hastalığında en sık kullanılan ölçek Birleşik Parkinson Hastalığı Değerleme Ölçeğidir. Hastalığı motor ve nonmotor özellikleri ve derecesiyle, tedavi komplikasyonlarıyla ve günlük yaşama etkileriyle değerlendiriyor olması yaygın olarak

kullanılan birleşik ölçek olmasını sağlamaktadır. Ölçek 4 bölümden oluşmaktadır. Bu bölümlerde toplam 42 madde vardır. Her maddede 0 semptom yok demekken 4 çok şiddetli semptom var demektir. Birinci bölüm non motor, ikinci bölüm günlük yaşam aktiviteleri, üçüncü bölüm motor ve dördüncü bölüm tedavi komplikasyonlarını değerlendirmektedir.

3.4.2. Hoehn ve Yahr Skalası

Hoehn ve Yahr tarafından 1967 yılında tanımlanmıştır. Hastalığın evresini değerlendirmek üzere geliştirilmiş bir skaladır. Hastalığı 8 evre olarak değerlendirir. Bu evreler aşağıdaki gibidir

Evre 0: Hastalık bulgusu yok.

Evre 1: Unilateral hastalık.

Evre 1.5: Unilateral bulgu ve aksiyel tutulum.

Evre 2: Denge bozukluğu olmadan bilateral hastalık.

Evre 2.5: Hafif bilateral hastalık, çekme testinde toparlanıyor.

Evre 3: Hafif-orta bilateral hastalık ve postural instabilite, fiziksel olarak bağımsız.

Evre 4: Şiddetli özürülük, yardımsız ayakta durabilir ve yürüyebilir.

Evre 5: Yardımsız yürüyemez tekerlekli sandalyeye ya da yatağa bağımlı

3.4.3. Schwab İngiliz Günlük Yaşam Aktivitesi

Genel olarak yüzde üzerinden günlük yaşam aktivitelerindeki bağımsızlık oranı değerlendiren bir skaladır. Ölçeğe göre %100 tam bağımsızken %0 yatağa tam bağımlılığı ifade etmektedir (67).

3.4.4. Minimental Değerlendirme

Bilişsel fonksiyonların derecesini ve şiddetini değerlendiren nicel bir test olup zamansal değişimi ile progresyonun takibinde kullanılabilir. Geçerlilik ve güvenilirliği yüksek bir testtir. Test 30 puan üzerinden skorlanmakta olup yürütücü fonksiyonları, viziyospasyol beceriyi, kısa zamanlı hafızayı, dikkati, oryantasyonu, kayıt hafızasını ve lisanı değerlendirir. Türkçe validasyonu Güngen ve arkadaşları tarafından 2002 yılında yapılmıştır (68).

3.4.5. Geriyatrik Depresyon Ölçeği

Otuz sorudan oluşan yaşlı popülasyonda depresyonu değerlendiren bir ölçektir. Testi uygulayan tarafından sorulan sorulara evet/hayır şeklinde verilen cevaplarla puanlandırılır. 0-10 puan normal, 11-13 puan olası depresif ve 14 üzeri puanlar depresyon olarak değerlendirilir. Ertan ve arkadaşları tarafından 2000 yılında Türkiye’de geçerlilik güvenilirlik çalışması yapılmıştır (69).

3.4.6. Epworth Uykululuk Ölçeği

Gündüz uykululuğu değerlendiren bir ölçektir. İlk defa 1991 yılında Johns M.W tarafından tanımlanmıştır (70). Sekiz sorudan oluşan ölçekte son bir aylık dönemde farklı günlük aktiviteler sırasında uyuklama ihtimali sorgulanır. Hiçbir zaman uyuklama olmaması sıfır puanken büyük olasılıklı uyuklama olması 3 puan olarak değerlendirilir. Epworth uykululuk ölçeğine göre 10 puan ve üzeri artmış gün içi uykululuk olarak kabul edilir. Türkçe validasyon çalışması 2007 yılında Karakoç ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (71)

3.5. Hastalardan Kan Alma İşlemi

Çalışmaya dahil edilecek hastaların ön kol antekubital venden mor kapaklı tüpe biri yedek olmak üzere 2 tüp kan alınmıştır. Alınan kanların üzerine hasta numarası yazılarak kanlar -20 derecede laboratuvar işlemi yapılınca kadar saklanmıştır.

3.6. Moleküler Analizler

3.6.1. DNA izolasyonu

Kandan DNA izolasyon işlemi uygun kit (QIAamp® DNA Kiti (Qiagen, 51306)) ile kitin protokolündeki adımlar izlenerek yapılmıştır. Elde edilen DNA’ların konsantrasyonu ve kalitesi bir nanodrop spektrometre (Spektrofotometrik OD260 ve OD280 parametreleri ölçüldü. DNA saflığı optik dansite olarak 260 ve 280 nm değerlerinin oranı hesaplanarak belirlendi) ve elektroforez işlemi ile tespit edilmiştir.

Elde edilen DNA’lar -20 derecede PCR işlemine kadar bekletildi.

3.6.2. İlgili Genlerin Belirlenmesi

ER stress ve otofaji ile ilgili moleküler biyolojik çalışmalar sonrasında parkinsonla ilişkili olduğu çalışmalarla gösterilmiş alt sinyal yollarında görevli

proteinlerin genleri hedef olarak seçilmiştir. Bu genler adaptif ER stress için: EIF2AK3, MAOA, XBP1, ATF6; terminal UPR için ASK1 ve CHOP ve otofaji için BRCA komşu bölgesi 1 (NBR1), GBA, LRRK2 ve PRKN olarak seçilebilir.

Memelilerde metilasyon DNA için bilinen tek endojen modifikasyon yöntemidir. DNA sentezi sonrasında metil grubunun sitozin halkasının beşinci karbonuna enzimatik olarak eklenmesi ile gerçekleşir. İnsan DNA'sında metile bölgeler genellikle genlerin düzenleyici sekanslarının olduğu promoter bölgelerde bulunmaktadır. Promoter bölgeler ise bir gende ilk ekzondan önceki DNA sekans bölgesinde (genellikle 0-1000 bazlık DNA sekansında) bulunmaktadır. Promoter bölgeler genellikle TATA yada CAAT kutusu içerir. Bu kutular öncesinde gen ekspresyonunun düzenlendiği enhancer adı verilen GGGCXG ya da GGGXGG sekanslarını içeren transkripsiyon faktörlerinin bağlandığı bölgeler vardır ve promoter bölgeler bu sekanslar yardımıyla kolaylıkla tanımlanabilir. İlgili genlerin sekansları <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene> adresinden bulunduktan sonra promoter bölgeleri yukarıdaki promoter bölge özellikleri dikkate alınarak belirlenmiştir. DNA metilasyonunu saptamak için günümüzde iki yöntem kullanılmaktadır. Bunlar bisülfid bazlı metod ve metilasyon sensitive restriksiyon enzim bazlı PCR (MSRE-PCR) metodudur. Bisülfid metoduyla karşılaştırıldığında MSRE-PCR metodu daha yüksek sensitiviteye ve unmetile DNA altyapısında %0.1'lik metile fraksiyonları saptama gücüne sahiptir. Periferal Kandan izolasyon gibi DNA oranlarının düşük olduğu durumlarda da sensitif olarak metile bölgeler belirlenebilir. İlgili genlerin PCR ile anlamlı sayıda kopyalanabilmeleri ve güvenilir veriler elde edilebilmesi için uygun primerin oluşturulması ve PCR dizaynının doğru yapılması gerekmektedir çünkü primerler MSRE kesim bölgelerinden en azından birini içermelidir. Bu nedenle aşağıdaki işlemler uygulanmıştır:

1. Hedef bölgeler ya da CpG'ler belirlenecektir. Bunun için UCSC genom tarayıcı kullanılacaktır. İlgili genlerin FASTA formatları bu siteden elde edilmiştir.
2. Genin FASTA formatı primer 3 online programına yüklenerek primerler elde edilmiştir. Primerlerin düzenlenme parametreleri şu şekilde belirlenmiştir:
 - a. Ürün (amplikon) uzunluk bölgesi: 75-250 baz çifti
 - b. Primer uzunluğu: 18-25 baz çifti

- c. Primer erime sıcaklığı: 58-62 derece
 - d. GC içeriği: %40-60 arasında olmalıdır.
3. UCSC genom tarayıcı tarafından bulunan primerin uzunluk ve lokasyonu kontrol edilmiştir.

Seçilen genlere spesifik yukarıdaki yöntemle oluşturulmuş primerler tablo 3.1’de özetlenmiştir.

Tablo 3.1. Genlerin promoterlerine spesifik primerleri

Oligonükleotit	Ön primer	Arka Primer
EİF2AK3	CTTCTTGCTGCTTCGCTTTT	GTCTGCGCTAACTGCCTCTT
MAOA	CAACCTAGTGAGGGCTGGAG	GTGGGCTCTCAACCTAGTGC
XBP1	CAAGCAATTCTCCCTGCTTC	CTCGGTGGCTCACACTTGTA
ATF6	GCCGCTGAAATTTAAAATGG	AAAGTCCAAGCGAGTCTACCC
NBR1	CGAGTCTCGGGCAAGTAGTC	GCCATTGATTGGTGGAGATT
GBA	CGCTGCAGAGGAGCCGCACT	AGGATGGCTTCACAGAGGAA
LRRK2	CTTTTCGGGTGTCCCAAGTA	GGATGGAAAGAGGGGTTAGC
PRKN	CTCGTAGTGCCAGGTTGAT	TTCAGGCCAGCAATCTTAC
CHOP	AGCACAGGGATTACAGGCAT	GAATCACCCACCTAAGGCCT
ASK1	CTTCTGGAGTGCCACAGTCA	CCCTGAAGCATTTCAGTGT

EİF2AK3: ökaryotik translasyon başlatıcı faktör, MAOA: monoamin oksidaz A, XBP1: X kutusu bağlayıcı protein 1, ATF6: transkripsiyon aktive edici faktör 6, NBR1: BRCA1 komşusu 1, GBA: glukoserebrozidaz, LRRK2: lösinden zengin tekrarlayan kinaz 2, PRKN: parkin, ASK1: apoptoz sinyal düzenleyici kinaz CHOP: C/EBP-homolog protein,

3.6.3. Primerlerin Standardizasyon İşlemi

Primerler temin edildikten sonra uygun protokol ile dilue edilerek kullanıma hazırlanmıştır. Sağlıklı bir kontrolden elde edilen kandan izole edilen DNA ile uygun protokolde PCR reaksiyonu kurularak primerlerin en iyi çalıştığı optimal sıcaklık belirlenmiştir. Bu işlem için her bir primer temin edilen laboratuvarın önerdiği sıcaklık derecelerinin ikişer derece alt ve üst sıcaklıklarında çalıştırılmıştır. Elde edilen en iyi CT değeri hangi sıcaklıkta ise o sıcaklık optimal derece olarak kullanılmıştır. Ayrıca CT değerinin kullanılan DNA replikasyonundan elde edilip edilmediğini kontrol amaçlı melt curve analizleri değerlendirilmiştir. Tabloda her bir primer için denenen

sıcaklıkları ve optimal çalışma sıcaklığı gösterilmiştir. Ayrıca her bir primer ile seri sulandırma ile DNA oranları onda bir azaltılarak PCR reaksiyonu kurulmuştur. Bu işlem ile elde edilen DNA'nın konsantrasyonu azaldıkça CT değerlerinin de lineer bir azalma göstermesi primerin etkin bir şekilde çalıştığını göstermek için kullanılmıştır. Uygulanan işlemler ile elde edilemeyen primerlerin optimal çalışma sıcaklıkları tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Primerlerin önerilen ve saptanan optimal çalışma sıcaklıkları

Lokus Bilgisi	Önerilen sıcaklık	Çalıştırıldığı aralık	Saptanan sıcaklık
EİF2AK3	55-59	55-63	57 ve üstü
MAOA	57-61	55-63	59 ve üstü
XBP1	57-59	55-63	59 ve üstü
ATF6	53-60	53-61	55 ve üstü
ASK1	57-59	55-63	59 ve üstü
CHOP	57-59	55-63	59 ve üstü
NBR1	55-61	55-63	57 ve üstü
GBA	57-66	57-65	61 ve üstü
LRRK2	57-59	55-63	59 ve üstü
PRKN	57-59	55-63	59 ve üstü

EİF2AK3: ökaryotik translasyon başlatıcı faktör, MAOA: monoamin oksidaz A, XBP1: X kutusu bağlayıcı protein 1, ATF6: transkripsiyon aktive edici faktör 6, NBR1: BRCA1 komşusu 1, GBA: glukoserebrozidaz, LRRK2: lösinden zengin tekrarlayan kinaz 2, PRKN: parkin, ASK1: apoptoz sinyal düzenleyici kinaz, CHOP: C/EBP-homolog protein,

3.6.4. Metilasyon Spesifik Restriksiyon Enzimi ile DNA'ların Metillenmemiş Promotör Bölgelerinden Kesilme İşlemi

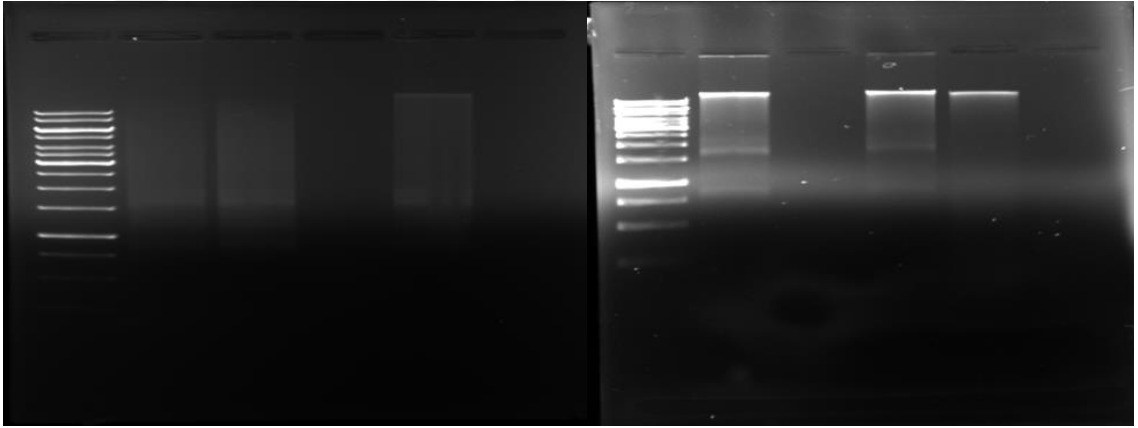
Elde edilen DNA'nın metillenmiş bölgelerinin PCR ile analiz edilebilmesi için metillenmemiş bölgelerinden kesilmesi gerekmektedir. Bu işlem için metilasyon spesifik restriksiyon enzimleri ile muamele edilmiştir. Bu enzimler metilli bölgeleri kesmezler. DNA ne kadar çok restriksiyon enzimi ile kesilirse o kadar doğru sonuç vereceğinden kesim işleminde birden fazla MSRE karışımı kullanılmıştır. Bunlar Acil, HpyCH4IV, Hin6I ve HpaII enzimleridir. Bu enzimlerle sadece metillenmemiş DNA parçalanacaktır ve parçalanmış bölgelerde PCR amplifikasyonu olmayacaktır. Metillenmiş bölgelerde ise DNA'lar sağlam kalacaktır ve PCR ile amplifikasyon olacaktır. Bu sayede ilgili promotor bölgelerin qPCR ile amplifikasyon durumları

değerlendirilerek metillenme durumları belirlenecektir. Kullanılacak enzimlerin kesim bölgeleri aşağıdaki tablo 3.3 gösterilmiştir.

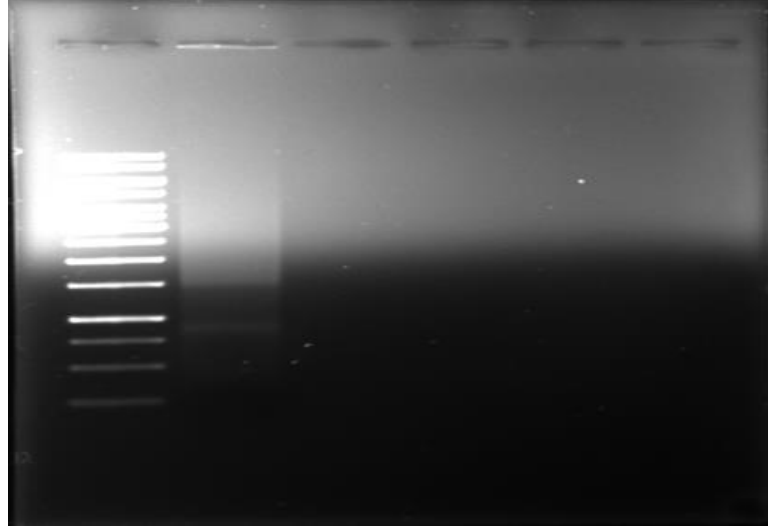
Tablo 3.3. MSRE tanıma bölgeleri (enzim kesim bölgeleri)

Restriksiyon enzimleri	Tanıma bölgesi
Acil	5'-CCGC-3' 3'-GGCG-5'
Hin6I	5'-GCGC-3' 3'-CGCG-5'
HpaII	5'-CCGG-3' 3'-GGCC-5'

Bu enzimlerle gerekli kesim yapılabilmesi için protokolün önerdiği şekilde reaksiyonlar hazırlandı. Her bir reaksiyona PCR'da kullanılacak reaksiyon sayısına yetecek kadar DNA miktarı, elde edilen DNA konsantrasyonları ve reaksiyon sayısı göz önüne alınarak hesaplandı. Enzimlerin çalışma kalitelerini arttırmak için mevcut enzimler tek tek, ikişerli gruplar halinde ve üçlü kombinasyon halinde kontrol bir DNA ile denendi (Şekil 3.1, Şekil 3.2). Normal şartlar altında en iyi kesimi Hpa2 ve Hin6I 37⁰ C'de sağladığı görüldüğü için katılımcı DNA'ları bu enzimlerle 24 saat inkübasyonda kesildi.



Şekil 3.1. Enzim kombinasyonu ile kesilen DNA'ların elektroforez görünümü. A: İkili enzim kesimi ile oluşan elektroforez görüntüsü. İlk sütun marker ikinci sütun achil ve hpa2 üçüncü sütun acil ve hin6I son sütun ise hin6I ve hpa2 ile oluşan kesimlerdir. B: tek enzim ile olması gereken şartlar sağlandığında DNA'ların yeterli derecede kesilemediği izlenmektedir.



Şekil 3.2. Üçlü enzim ile DNA kesimi ile elde edilen elektroforez görüntüsü

İkili enzim kesimleri ile üçlü enzim kesimleri arasında kesim düzeyi arasında belirgin fark olmaması üzerine ikili enzimler kullanılarak DNA kesim işleminin yapılmasına karar verildi. MSRE ile kesim reaksiyonu için kullanılan kit protokolüne uygun şekilde DNA'lar kesilmiştir. Kesim reaksiyonu protokolü Tablo 3.4'de gösterilmektedir.

Tablo 3.4. Metilasyon spesifik restriksiyon enzimi ile DNA kesim reaksiyonu

Eklenecek malzeme	Miktar
DNA	Eklenecek DNA miktarı (150ng)*total reaksiyon sayısı/DNA konsantrasyonu
Enzimler (Hpa2, Hin6I)	0.5-1 mikrogram DNA için 0.5-1 mikrolitre enzim
Su	Enzim, DNA ve buffer sonrası total volümü tamamlayacak kadar su
Tango buffer	Total reaksiyonun/10 (1X)

DNA: deoksiribonükleik asit

İlişkili genlerin analizleri restriksiyon enzimleriyle kesim işleminden sonra SYBR green bazlı Real-Time qPCR analizi ile değerlendirilecektir. Deney düzeniğinin çalışıp çalışmadığı öncelikle kontrol genleri üzerinde denendi. Bu genler kalsitonin ilişkili polipeptit alfa (CALCA) ve frajil mental retardasyon 1 (FMR1) olarak seçilebilir. CALCA kanser olmayan bireylerde her iki parental kromozomda da unmetiledir ve MSRE muamelesi sonrasında PCR ile amplifikasyon izlenmeyecektir. FMRI ise X kromozomu üzerindedir ve MSRE ile muamele sonrasında cinsiyet bağımlı

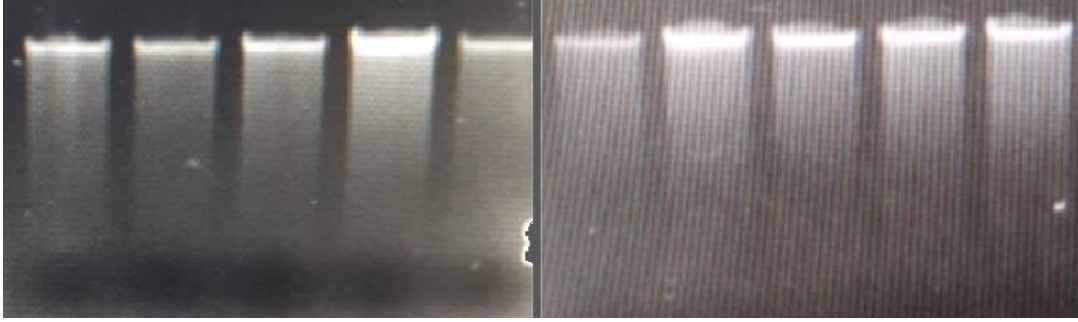
sinyal alınmasını sağlar. Erkek bireylerde PCR ile ürün elde edilemeyecek ancak kadınlarda inaktif X kromozomundan dolayı ürün elde edilecektir. Bu ön kontrol deneyi bir erkek ve bir kadın DNA'sı kullanılarak deneyerek cinsiyet etkilerinin izlenmesine olanak sağlandı (Tablo 3.5).

Tablo 3.5. Kontrol genlerinin primer sekansları

Gen	İleri primer	Geri primer
CALCA	CCGCCGCTGCCACCGCCTCTG	ACGCCGTCCCTGATCGCACCGTCTG
FMR1	CCCGGCCCGCTGCGGGTGTA	CGACCTGTCACCGCCCTTCAGCCTCC

CALCA: Kalsitonin İlişkili Polipeptit Alfa, FMR1: fragil mental retardasyon 1

Kesim reaksiyonu sonrasında DNA'lar jel elektroforezde yürütülerek DNA'nın parçalandığı doğrulanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Bazı hasta örneklerinin izole edilen DNA'larının MSRE ile kesim reaksiyonu sonrasında elde edilen agaroz jel elektroforez görüntüsü. DNA hatının altındaki sürüntü görüntüsü DNA'nın parçalanmış yani uygun bir şekilde MSRE ile kesilmiş olduğunu göstermektedir.

Her bir gende enzim ile kaç bölgenin kesildiği Tablo 3.6'da gösterilmiştir.

Tablo 3.6. Her bir gende MSRE ile kesilen bölge sayısı

Gen	Hin6I	HpaII
EİF2AK3	3	11
MAOA	10	10
XBP1	1	4
ATF6	1	2
NBR1	4	7
GBA	0	1
LRRK2	4	8
PRKN	6	5
CHOP	8	6
ASK1	17	6

EİF2AK3: ökaryotik translasyon başlatıcı faktör, MAOA: monoamin oksidaz A, XBP1: X kutusu bağlayıcı protein 1, ATF6: transkripsiyon aktive edici faktör 6, NBR1: BRCA1 komşusu 1, GBA: glukoserebrozidaz, LRRK2: lösinden zengin tekrarlayan kinaz 2, PRKN: parkin, ASK1: apoptoz sinyal düzenleyici kinaz, CHOP: C/EBP-homolog protein

3.6.5. Real Time PCR ile Analiz

Her bir örnek için üçer tane olmak üzere toplam 45 katılımcının 135 reaksiyonu kesilmiş DNA'lar ile kurulacakken 135 reaksiyon kesilmemiş DNA ile tablodaki PCR reaksiyonu hazırlama oranlarına göre kurulmuştur. Her hastanın kesilmiş DNA CT değerleri kesilmemiş DNA CT değerleri ile normalize edilecektir. Bu işlemler tek primer için geçerli olup on primer için aynı işlemler tekrarlanmıştır. Öncesinde DNA ve primer içermeyen boş örnek ve metilasyon paternleri bilinen genlerin primerleri kontrol reaksiyonları ile bir erkek ve bir kadın DNA'sı ile kurulmuştur. PCR reaksiyonu içeriği Tablo 3.7 ve Tablo 3.8'de gösterilmektedir.

Tablo 3.7. PCR reaksiyonunda kullanılacak maddeler ve oranları

İçerik	Reaksiyon Başına Miktar (µl)
dH2O	15
5x Tampon (Thermo Inc.)	5
dNTP karışımı, 10mM	0.5
Ön Primer (5 µM)	1
Arka Primer (5 µM)	1
PhireII HS DNA Polimeraz (Thermo Inc.)	0.5
MSRE ile kesilmiş DNA	2
Toplam	25

MSRE: Metilasyon spesifik restrüksiyon enzimi. DNA: deoksiribonükleik asit

Tablo 3.8. PCR reaksiyonu döngü programı

Sıcaklık	Döngü
95°C	10 dakika 1 döngü
95°C	
61°C	Her bir sıcaklık sırayla 45'er saniye olmak üzere toplamda 2 dakika 15 saniyelik 30 döngü
72°C	
72°C	10 dakikalık 1 döngü
4°C	1 döngü

Her bir katılımcının kesilmiş DNA ile üç ve kesilmemiş DNA ile üç reaksiyon olmak üzere her bir gen için altışar reaksiyon kit protokolüne uygun olarak kurulmuştur. Her reaksiyon 20 mikrolitre olarak ayarlanmıştır. Bunun için 150ng DNA'yı sağlayacak miktarda DNA, 10 mikrolitre mastermiks, 0.5 mikrolitre primer ve reaksiyon miktarını tamamlayacak kadar su kullanılmıştır. Reaksiyon döngüleri 10 dakika 95⁰ C'de bir döngü, sonrasında 45'er saniyelik 95-61-72⁰ C'lerde 30 döngü ve son uzama için 10 dakika 72⁰ C olarak kurulmuştur. Primerlerin en iyi çalıştığı sıcaklık 61⁰ C olduğu için döngüde de bu sıcaklık kullanılmıştır. Katılımcıların kesilmiş DNA'larından Real Time PCR (RT-PCR) ile elde edilen döngü eşiği (cycle threshold-CT) değerlerinin internal kontrolü olarak kesilmemiş DNA'larının CT değerleri kullanılmıştır. Kesilmemiş DNA hem metillenmiş hemde metillenmemiş DNA'ların toplamını göstermektedir. MSRE ile

kesilmiş DNA ise metillenmemiş DNA'lar kesileceğinden sadece metillenmiş DNA miktarını gösterecektir. Sonuç olarak kesilmemiş DNA miktarından kesilmiş DNA miktarı çıkarıldığında metillenmemiş DNA miktarı elde edilecektir. Bu normalizasyon PCR protokolündeki livak metodu denen $2^{-\Delta\Delta CT}$ ile hesaplanmaktadır. Metilasyona göre kesilme oranına bağlı olarak oluşan amplifikasyon farkı metillenmemiş DNA miktarını göstermektedir. CT değeri DNA miktarıyla ters orantılı olduğu için bu methoda elde edilen veri ne kadar küçükse metillenmemiş DNA miktarı o kadar yüksektir. Her bir gen için kontrollerden ve hastalardan elde edilen metillenmemiş DNA miktarı arasındaki ilişki araştırılmıştır.

PCR ürünleri etüdyum bromür içeren %3'lük agoroz jelde yürütülerek analiz edilmiştir. Örneğin bir DNA'da çoğaltılmak istenen gen hipometile ise MSRE ile yüksek oranda kesilecektir ve çoğaltılacak gen kesilmiş olduğundan amplifikasyon olmayacaktır. Dolayısıyla jelde yürütüldüğünden sadece primerler izlenecektir. Ancak metilasyon yüksekse amplifiye edilecek gen çoğunlukla kesilmeyeceğinden primerlerin neredeyse hepsi kullanılacak yani jelde sadece amplifiye edilmiş DNA görülecektir. Eğer metilasyon orta düzeydeyse hem kesilmiş hem kesilmemiş gen bölgelerini içereceğinden jelde hem amplifiye olmuş DNA'lar hem de primerler izlenecektir. (Şekil 3.4)



Şekil 3.4. Kesilmiş DNA ile kurulan PCR reaksiyonu sonrası yürütülen jel elektroforez görünümü. CHOP geninin metilasyonu çok az olduğundan MSRE ile çoğunlukla kesildiği ve PCR ile amplifiye olmaması nedeniyle jelde primerler izlenmektedir. LRRK geni ise yüksek oranda hipermetile olduğundan MSRE ile kesilememiştir ve jelde amplifiye olmuş DNA izlenmiştir. PRKN geninde ise orta düzeyde metilasyon olduğundan hem amplifiye olmuş DNA hem de primerler izlenmektedir. Son jel kuyucuğunda ise sadece primer yürütülmüştür. Bu da bize diğer kuyucuklarda primer varlığının gösterilmesine yardımcı olmaktadır.

3.7. İstatistiksel Analiz

Yapılan power analizde Parkinson hastaları ve kontrol grubunun patogeneze yönelik hücresel yolaklarla ilişkili genlerinin DNA metilasyon farklılıklarının oranını %95 güven düzeyinde ($\alpha=0.05$) ve %80 güç ile ($\beta=0.20$) karşılaştırmak için etki büyüklüğü 0.42 olarak öngörüldüğünden çalışmaya alınması gereken toplam birey sayısı minimum 45 olarak hesaplanmıştır. Verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS yazılımının Windows 22.0 için istatistik sürümü kullanılarak değerlendirilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Veriler medyan, minimum ve maksimum değerler ile özetlendi. İki bağımsız grubun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Parkinson hastalarının gen metilasyon düzeyi ile klinik ve inflamasyon markerlarından elde edilen sayısal değişkenler arası ilişkiler Spearman sıra korelasyon katsayısı ile incelendi. Tüm analizlerde anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma tarihleri arasında polikliniğimize 182 Hareket bozuklukları topluluğunun 2015 yılında revize ettiği idiopatik Parkinson hastalığı tanı kriterlerini taşıyan yeni tanı Parkinson hastası başvurmuştur. Bu hastalar arasında 82 tanesi diyabetik, 7 tanesi herhangi bir kanser, 24 tanesi koroner arter hastalığı ve 5 tanesi ek nörodejeneratif hastalığı olduğu için çalışmaya dahil edilmemiştir. 39 tanesi ise yaş kriterini karşılamadığı için dışlanmıştır. Bu çalışmaya kriterleri karşılayan 25 parkinson tanılı ve 20 kontrol olmak üzere toplam 45 gönüllü aynı nöroloji uzmanı tarafından testleri uygulanarak verileri kaydedilmiş ve çalışmaya alınmıştır.

Kontrol grubu sağlıklı gönüllülerden oluştuğu için bu gruba klinik değerlendirme testleri ve inflamasyon markerlarına bakılmamıştır.

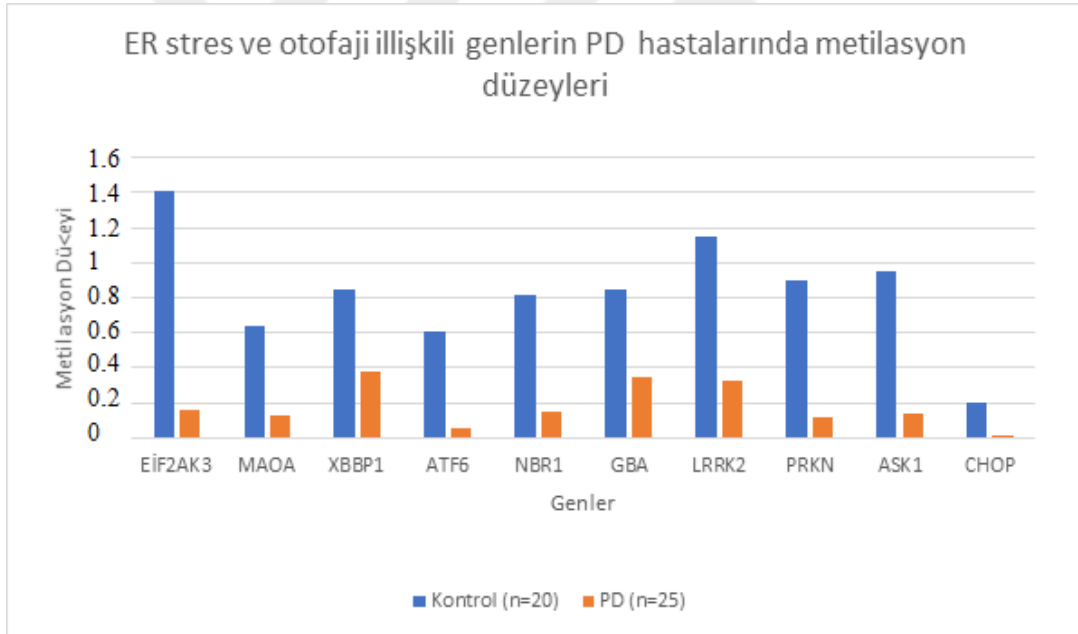
Yaş ortalaması hastalarda 63 ± 6.7 ; kontrollerde 58.7 ± 4.54 olarak saptanmıştır. Hastaların 11'i kadın 14'ü erkek kontrollerin 11'i erkek 9'u kadındı. Katılımcıların hiçbirinde diyabet koroner arter hastalığı, kanser ve ek nörodejeneratif hastalık yoktu. Hastaların karakteristik özellikleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Parkinson tanılı hastalarda adaptif ve terminal ER stres ve otofaji ilişkili tüm genlerin metilasyon düzeyi kontrollere göre düşük saptanmıştır ancak XBBP istatistiksel olarak anlamlı değilken ($p=0.157$) diğer genler istatistiksel anlamlı olarak değerlendirilmiştir (EIF2AK3 $p=0.015$, MAOA $p=0.003$, ATF6 $p=0.002$, NBR1 $p=0.007$, GBA $p=0.012$, LRRK2 $p=0.043$, PRKN $p=0.005$, ASK1 $p=0.035$ ve CHOP $p<0.001$). Hastaların ER stres ve otofaji ile ilişkili genlerinin metilasyon düzeylerinin ilişkisi Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Katılımcıların karakteristik özellikleri

Karakteristik	hastalar (N=25)	kontrol (N=20)
Yaş	63.08±6.78	58.75±4.54
Cinsiyet K/E	11K 14E	9K 11E
UPDRS	31.76±15.9	NA
Minimental	26.64±3.1	NA
H&Y	1.56±0.9	NA
Schwab	%80±%17	NA
Epworth	4.14±2.1	NA
Depresyon	10.92±6.03	NA
İnflamasyon Markerları		
N/L	2.51±1.55	NA
M/HDL	0.13±0.07	NA
T/L	109.8±46.71	NA
L/M	6.13±5.82	NA
SEDİMENTASYON	24.14±24.56	NA
FERRİTİN	84.30±73.20	NA

UPDRS: birleştirilmiş Parkinson hastalığı değerlendirme skalası, H&Y: Hoehn ve Yahr skalası, N/L: nötrofil/ lenfosit, M/HDL: monosit/ yüksek dansiteli lipoprotein, T/L: trombosit/ lenfosit, L/M: lenfosit/monosit



Şekil 4.1. ER stres ve Otofaji ilişkili genlerin Parkinson hastalığında epigenetik regülasyonunun kontrolle karşılaştırılmalı olarak gösterilmesi. Livak metoduna göre elde edilen veri ne kadar hipometile olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla bir sayı ne kadar küçükse o kadar hipometiledir. Şekilde hastaların metilasyon düzeyi kontrollerden çok daha düşük olarak izlenmektedir. EIF2AK3 p=0.015, MAOA p=0.003, ATF6 p=0.002, NBR1 p=0.007, GBA p=0.012, LRRK2 p=0.043, PRKN p=0.005, ASK1 p=0.035 ve CHOP p<0,001 olarak elde edilmiş olup istatistiksel anlamlı saptanmışken XBP1 için p= 0,157 olarak elde edilmiştir.

Hastalardan elde edilen verilerde grup içinde cinsiyete bağlı farklılık olmadığı izlendi. Hasta grubunda cinsiyete bağlı çalışılan genlerin metilasyon düzeylerinde farklılıklar Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

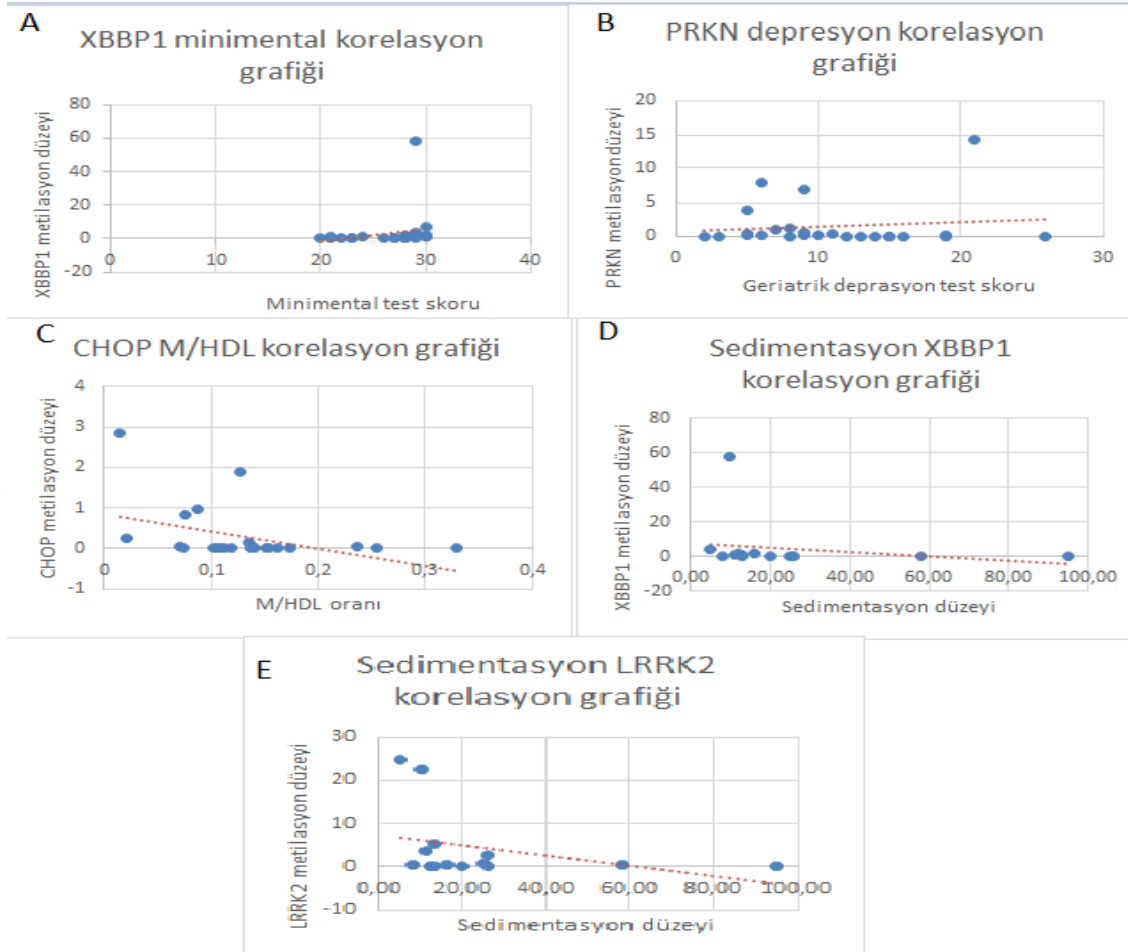
Tablo 4.2. Hasta grubunda cinsiyet ve ilişkili genlerin metilasyon düzeyi arasındaki ilişki

	Kadın (n=11)	Erkek (n=14)	
	Median (min.-max.)	Median (min.-max.)	p
EİF2AK3,	0.1102 (0.0002-37.2198)	0.1558 (0.0138-2.4932)	0.809
MAOA	0.2056 (0.0001-16.6563)	0.0634 (0.0046-1.6795)	0.134
XBP1	0.3792 (0-58.1215)	0.5501 (0-2.145)	0.609
ATF6	0.1002 (0-449.289)	0.0485 (0-1.868)	0.727
NBR1	0.1547 (0.0063-10.465)	0.1539 (0.0409-19.9387)	0.851
GBA,	0.3494 (0-1.0446)	0.2818 (0-7.5318)	0.609
LRRK2	0.3226 (0.0001-24.8987)	0.2754 (0.0004-5.1622)	0.893
PRKN	0.0798 (0-6.8305)	0.1974 (0.0012-14.44)	0.434
ASK1	0.1355 (0.0031-9.425)	0.1717 (0.0469-59.1579)	0.403
CHOP	0.0072 (0-0.9593)	0.0013 (0-2.8481)	0.851

EİF2AK3: ökaryotik translasyon başlatıcı faktör, MAOA: monoamin oksidaz A, XBP1: X kutusu bağlayıcı protein 1, ATF6: transkripsiyon aktive edici faktör 6, NBR1: BRCA1 komşusu 1, GBA: glukoserebrozidaz, LRRK2: lösinden zengin tekrarlayan kinaz 2, PRKN: parkin, ASK1: apoptoz sinyal düzenleyici kinaz, CHOP: C/EBP-homolog protein,

Hastaların ER stres ve otofaji ilişkili genlerinin metilasyon düzeyleri ile hastalık özellikleri arasında ilişki değerlendirilmiştir. Ancak bu genlerin metilasyon düzeyleri ile hastaların yaşları, cinsiyetleri, motor ve non motor özellikleri, günlük yaşam aktiviteleri, özürüllükleri ve uyku kaliteleri ile bir ilişki saptanmamıştır ER stres İRE1 sinyal iletimi yolağının ana proteinlerinden olan XBP1 metilasyon düzeyinde hastalar ve kontrol grupları arasında istatistiksel bir ilişki olmasa da bu genin metilasyon düzeyi ile hastaların bilişsel düzeylerini gösteren mini mental test arasında pozitif korelasyon gösterilmiştir ($r=0.563$, $p=0.003$). Aynı zamanda sedimentasyonları ile negatif korelasyon gözlenmiştir ($r=-0.661$, $p=0.010$). Otofaji ile ilişkili PRKN gen metilasyon düzeyi depresyon ile negatif korele olarak izlenmiştir ($r=-0.434$, $p=0.030$). Apoptoz ve ER stres PERK sinyalinin terminal yoluna girmesi ile tetiklenen CHOP geninin metilasyon düzeyi inflamasyon markerı olan monosit/yüksek dansiteli protein (M/HDL) ile negatif koreledir ($r=-0.437$, $p=0.038$). Son olarak LRRK2 metilasyon düzeyi ile sedimentasyon negatif korele olarak saptanmıştır ($r=-0.546$, $p=0.043$). Korelasyon grafikleri Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Hastaların kliniği ve laboratuvar testleri ile ER

stress ve otofaji gen metilasyon düzeyleri arasındaki ilişki Tablo 4.3 ve 4.4’de gösterilmektedir.



Şekil 4.2. ER stres ve otofaji ilişkili genlerin hipometilasyon düzeyleri ile hastaların klinik ve inflamatuvar markerları arasında korelasyon saptanan verilerin gösterimi. A: XBP1 geninin hipermetilasyonu ile hastaların bilişsel düzeylerini gösteren minimal test arasında pozitif korelasyon gösterilmiştir ($r=0.563$, $p=0.003$). B: PRKN geni hipermetilasyonu depresyon ile negatif korele olarak izlenmiştir ($r=-0.434$, $p=0.030$). C: CHOP geninin hipermetilasyonu inflamasyon markerı olan M/HDL ile negatif koreledir ($r=-0.437$, $p=0.038$). D: LRRK2 hipermetilasyonu ile sedimentasyon negatif korele olarak saptanmışken ($r=-0.546$, $p=0.043$); E: XBP1 hipermetilasyonu hastaların sedimentasyonları ile negatif korelasyon gözlenmiştir ($r=-0.661$, $p=0.010$)

Tablo 4.3. Hastaların demografik ve klinik özellikleri ile ER stres ve otofaji ilişkili genlerin metilasyon düzeyi arasındaki korelasyon analizi

PH	EIF2AK3	MAOA	XBPI	ATF6	NBR1	GBA	LRRK2	PRKN	ASK1	CHOP
Yaş	r	.034	-.340	-.105	.292	-.184	-.189	.171	.383	.144
	p	.619	.096	.617	.157	.378	.365	.414	.059	.493
	n	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Total MMT	r	.285	-.563*	.379	-.089	-.008	-.096	-.004	-.095	-.225
	p	.167	.003	.062	.673	.970	.648	.985	.652	.279
	n	25	25	25	25	25	25	25	25	25
UPDRS	r	-.237	-.101	-.154	-.188	-.102	.136	-.367	-.049	-.219
	p	.254	.630	.461	.368	.627	.516	.071	.817	.292
	n	25	25	25	25	25	25	25	25	25
H&Y	r	-.096	-.046	-.033	-.101	.031	.249	-.184	.166	-.056
	p	.648	.827	.877	.631	.882	.231	.378	.427	.792
	n	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Schwab	r	-.019	.051	-.006	-.034	-.051	-.277	.119	-.034	.170
	p	.930	.809	.978	.873	.808	.180	.571	.872	.416
	n	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Epworth	r	-.039	-.332	-.256	.070	-.083	-.232	-.008	-.117	-.343
	p	.854	.105	.217	.739	.693	.264	.971	.577	.093
	n	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Depresyon	r	-.069	.053	-.086	-.254	-.101	.069	-.434*	-.305	-.387
	p	.741	.802	.684	.220	.630	.743	.030	.139	.056
	n	25	25	25	25	25	25	25	25	25

PH: Parkinson Hastalığı. MMT: mşinimental test. UPDRS: birleşik Parkinson Hastalığı derecelendirme skalası. H&Y: Hoehn ve Yahr. EIF2AK3: ökaryotik transkripsiyon başlatıcı faktör. MAOA: monoamin oksidaz A. ATF6: transkripsiyon aktive edici faktör 6, NBR1: BRCA1 komşusu 1, GBA: glukoserebrozidaz, LRRK2: löşinden zengin tekrarlayan kinaz 2, PRKN: parkin, ASK1: apoptoz sinyal düzenleyici kinaz, CHOP: C/EBP-homolog protein, XBPI: X kutusu bağlayıcı protein 1

Tablo 4.4. Hastaların inflamasyon markerları ile ER stres ve otofaji ilişkili genlerin metilasyon düzeyleri arasındaki korelasyon analizi

PH	EIF2AK3	MAOA	XBPI	ATF6	NBR1	GBA	LRRK2	PRKN	ASK1	CHOP
WBC										
R	.178	-.178	-.067	.127	-.074	.287	.183	.283	.274	.037
P	.394	.394	.752	.546	.726	.164	.381	.170	.184	.862
N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
NÖTROFİL										
R	-.250	-.266	-.159	-.176	.022	.203	.309	.148	-.032	-.192
P	.227	.198	.448	.400	.918	.330	.133	.480	.878	.358
N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
LENFOSİT										
R	.184	.177	.114	.135	-.025	-.207	-.298	-.215	-.144	.035
P	.379	.396	.586	.520	.905	.321	.148	.301	.491	.868
N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
HG										
R	.325	.086	.183	.246	-.038	.363	.163	.193	.250	.269
P	.113	.683	.381	.235	.857	.075	.437	.356	.228	.194
N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
HTC										
R	.365	.192	.386	.359	-.081	.374	.239	.130	.149	.408*
P	.073	.357	.056	.078	.699	.066	.251	.537	.476	.043
N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
MCV										
R	.023	.080	.055	.156	.112	.149	.120	.267	.174	.320
P	.911	.703	.794	.457	.595	.476	.566	.197	.405	.119
N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
PLT										
R	-.060	-.086	-.129	-.168	-.109	-.015	-.102	.035	.081	-.053
P	.776	.683	.539	.423	.602	.943	.628	.867	.700	.802
N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
MONOSİT										
R	-.055	.055	-.279	-.358	-.050	.055	-.192	-.092	-.065	-.425*
P	.794	.793	.177	.079	.812	.795	.359	.661	.759	.034
N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

N/L	R	-.229	-.217	-.129	-.159	.004	.188	.280	.183	.114	-.098
	P	.271	.297	.538	.448	.984	.367	.176	.381	.589	.640
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
M/HDL	R	.005	-.076	-.194	-.233	-.040	.068	-.137	.020	-.094	-.427*
	P	.981	.724	.365	.273	.854	.753	.523	.924	.661	.038
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
T/L	R	-.265	-.134	-.264	-.364	-.027	-.018	.085	.079	-.102	-.064
	P	.201	.523	.203	.073	.897	.933	.686	.707	.629	.760
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
L/M	R	.079	-.017	.233	.262	-.061	-.214	-.115	-.101	-.053	.325
	P	.709	.936	.262	.206	.772	.305	.583	.630	.801	.112
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
CRP	R	.296	.216	.279	.304	.301	.117	.264	.300	-.125	.061
	P	.160	.310	.186	.149	.153	.586	.212	.155	.562	.777
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
SEDIMENTASYON	R	.014	-.267	-.661*	-.352	.309	-.407	-.546*	.214	.093	-.355
	P	.961	.356	.010	.217	.282	.148	.043	.463	.753	.213
	N	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
AST	R	.354	.308	.157	.145	-.055	.336	.120	.181	.026	.111
	P	.082	.134	.453	.489	.793	.101	.569	.386	.901	.597
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
ALT	R	.269	.193	.397*	.313	-.228	.580**	.229	.185	.056	.129
	P	.194	.354	.049	.128	.272	.002	.271	.376	.792	.540
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
GGT	R	.235	.045	.178	.067	.286	.129	.023	.306	-.149	-.308
	P	.292	.844	.427	.766	.197	.566	.917	.166	.507	.163
	N	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22

ÜRE	R	-.534**	-.406*	-.481*	-.449*	-.226	-.645**	-.464*	-.401*	-.212	-.124
	P	.006	.044	.015	.024	.277	.001	.020	.047	.310	.553
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
KREATİNİN	R	-.216	-.057	-.239	-.168	-.010	-.230	-.249	-.120	-.078	.147
	P	.301	.787	.250	.423	.961	.269	.230	.569	.711	.482
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
HDL	R	-.170	.047	-.040	-.048	.141	-.086	-.051	-.102	.108	.105
	P	.428	.826	.851	.824	.511	.689	.814	.635	.615	.627
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
LDL	R	.195	.035	.111	-.042	-.030	.107	.066	-.058	-.159	.034
	P	.362	.870	.605	.844	.888	.620	.759	.787	.459	.876
	N	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
LENFOSİT SAYISI	R	.146	.013	.117	.193	-.065	-.012	-.138	-.013	.126	.077
	P	.485	.951	.579	.355	.758	.953	.510	.952	.549	.713
	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
FERRİTİN	R	-.068	-.070	.235	.099	.008	.055	.051	.096	.168	.118
	P	.771	.765	.305	.668	.973	.814	.827	.678	.468	.610
	N	21	21	21	21	21	21	21	21	21	21

PH: Parkinson Hastalığı, WBC: Beyaz kan hücreleri, HG: hemoglobin, HTC: hemotokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, PLT: trombosit, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, GGT: gama glutamil transferaz, HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein, LDL: Düşük dansiteli lipoprotein, N/L: Nötrofil lenfosit oranı, M/HDL: monosit yüksek dansiteli lipoprotein oranı, T/L: trombosit lenfosit oranı, L/M: lenfosit monosit oranı, CRP C reaktif protein, EIF2AK3: ökaryotik translasyon başlatıcı faktör, MAOA: monoamin oksidaz A, ATF6: transkripsiyon aktive edici faktör 6, NBRI: BRCA1 komşusu 1, GBA: glukoserebrosidaz, LRRK2: lösenden zengin tekrarlayan kinaz, PRKN: parkin, ASK1: apoptoz sinyal düzenleyici kinaz, CHOP: C/EBP-homolog protein, XBP1: X kutusu bağlayıcı protein 1

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın önemli bulgularından biri Parkinson hastalığının moleküler patogeneğinde ER stres ve otofaji sinyalizasyon yollarında görevli proteinlerin sentezlenmesi için gereken gen ekspresyonunda epigenetik mekanizma olan DNA metilasyonunun önemli bir rol oynadığının gösterilmesidir. Bir diğer önemli bulgusu ise otofaji ve adaptif ER stres ilişkili genlerin epigenetik düzenleme ile ekspresyonları artarken terminal ER stres ilişkili CHOP ve ASK1 genlerinde bu artışın çok daha belirgin olduğunun gösterilmesidir. Yani çalışmamız nöroprotektif sinyalizasyon yolları ile nörodejeneratif sinyalizasyon yolları arasındaki balansın nörodejeneratif tarafa doğru kaymakta olduğunu göstermektedir.

Parkinson hastalığının patogeneğinde yeralan substantia nigradaki dopaminerjik nöron kaybının en önemli nedeni alfa sinükleinden oluşan Lewy cisimciklerinin hücresel yaşamın tolere edebileceğinden fazla hale gelerek apoptotik nörodejeneratif süreçleri tetiklemesi olduğu düşünülmektedir (72). Lewy cisimciklerinin temizlenmesinde ise asıl etkili görevi ER, otofajik lizozomlar ve mitokondri üstlenmektedir (44, 73, 74). Özellikle ER’da görevli üç ana sinyal yolağı vardır. Bunlar ya yanlış katlanmış proteinleri şaperonlarla çözerek tekrar katlanmasını ya da yanlış katlanma düzeltilemiyorsa ER ilişkili degradasyona yönlendirilerek yıkılmasını sağlamaktadır. Adaptif olarak çalışan bu mekanizma adaptif ER stres olarak isimlendirilir ve hücresel protektif olarak görev yapmaktadır. Nöronal hücrede ER’un adaptif olarak sinyal yollarının düzeltebileceğinden fazla agregasyon varsa aynı sinyal yollarında terminal ER stres olarak da adlandırılan apoptozu tetikleyebilecek proteinlerin transkripsiyonunu arttırarak nörodejeneratif olarak da çalışabilmektedir. (4).

ER stres PERK sinyalizasyon yolağının ana proteinlerinden eIF2 α ’yı fosforile ederek inaktive etmek için EIF2AK3 protein sentezi arttırılır (75). Bu sayede azaltılmış eIF2 α adaptif ER stres varlığında XBP1 üzerinden ERAD ilişkili proteinlerin transkripsiyonunu arttırmaktadır. Yanlış katlanmış proteinlerin ER tarafından düzeltilmesine zaman tanımak için genel protein sentezini azaltmaktadır. Bu yol üzerinden nöroprotektif rolü vardır (75). Terminal ER stress varlığında CHOP üzerinden proapoptotik proteinlerin aktivasyonu ile nörodejenerasyonu tetikleyebilecek rollere sahiptir (4, 76). Literatürde hem Parkinson modelinin oluşturulduğu hücre hatlarında hem hayvan modellerinde hem de hastalarda bu yolağın aktive olduğu

gösterilmiştir (77-81). EIF2AK3 ekspresyonunun, bizim çalışmamızda da literatürle benzer şekilde epigenetik düzenlemenin ana mekanizmalarından biri olan hipometilasyon ile arttığı gösterilmiştir. Çalışmamızda aynı zamanda XBP1 metilasyon farkı saptanmamışken CHOP hipometilasyonunun istatistiksel anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir. Bu da EIF2AK3'ün aslında terminal ER stresi tetikleyerek CHOP transkripsiyonunu arttırdığının ve nörodejeneratif rol oynadığının göstergesidir.

Adaptif ER stres sinyal yollarından IRE1'dir. Bu yolda IRE1 yanlış katlanmış protein varlığında fosforile olarak RNAaz aktivitesi ile XBP1'in mRNA'sını keserek aktive olmasını tetikler (4, 75). Bu proteinin asıl görevi ER ilişkili degradasyonu aktive ederek yanlış katlanmış proteinlerden düzeltilmeyenlerin yıkılmasını sağlamaktır (2). Bu sinyalizasyon yolağının terminal ER stres durumunda ASK1 proteinini aktive ederek apoptozu tetiklediği gösterilmiştir (82). Literatürde hem Parkinson hücre hatlarında hem de hayvan modellerinde XBP1'in nöroprotektif olarak etkin olduğu sentezinin bloke edilmesiyle parkinsonizm geliştiği gösterilmiştir (79, 83-85). Çalışmamızda da hastalarla kontroller arasında XBP1 gen ekspresyonunu etkileyebilecek anlamlı metilasyon değişikliği saptanmamıştır. Ancak IRE1 sinyal yolağının terminal ER stresle aktive olduğunu gösterecek ASK1 metilasyonunda kontrollerle karşılaştırıldığında hastalarda belirgin azalma olarak gen ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Yine bu veriler PH'de IRE1 sinyalizasyon yolağının terminal ER stres nedeniyle aktive olarak nörodejenerasyonda etkin rol oynadığının önemli bir belirteçidir.

Son olarak ER stresin üçüncü sinyal yolağı ATF6 sinyalizasyonudur. Adaptif stres varlığında golgi aracılığıyla şaperonların transkripsiyonel aktivasyonunu sağlamaktadır (2, 44, 86). Terminal ER streste ise EIF2AK3 gibi CHOP aracılığıyla nörodejenerasyona neden olmaktadır (87). Parkinson oluşturulmuş hayvan modellerinde nöroprotektif role sahip olduğu gösterilmiştir. Özellikle ısı şoku faktörleri denen şaperonlardan HSP70, HSP90 gibi proteinlerin Parkinson hastalığında azaldığı ya da mutasyona uğradığı için PH patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir (87-89). Bizim çalışmamızda saptadığımız ATF6 hipometilasyonu ise terminal ER stres ATF6 sinyal yolağının aktivasyonuna sekonder CHOP hipometilasyonuna neden olan ikinci ana unsur olduğu düşünülebilir.

MAOA ve B, mitokondrinin dış zarında bulunan ve periferde dopamin bozulmasına neden olan flavoenzimlerdir. Parkinson hastalığının klinik etkilerinde

anahtar rol oynadığı bilinmektedir (90). Mitokondri ve ER birbirini fonksiyonel ve yapısal olarak etkiler. Çalışmalar, MAOA gen ekspresyonunun, genin promotör bölgesindeki kritik -71 ve -40bp bölgesinden doğrudan kontrol edildiğini ve gen ekspresyonu ile metilasyonun negatif ilişkili olduğunu göstermiştir (91). MAOA'nın kronik ER stresi tarafından aktive edildiğini gösteren çalışmalar vardır (92). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada deneysel olarak indüklenen parkinsonizmin MAOA inhibisyonu ile tedavi edilebileceği gösterilmiştir (29). Ancak PD hastalarında MAOA metilasyonunu inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda, kontrollere kıyasla PD hastalarında MAOA'nın önemli ölçüde hipometile olduğu bulundu. Çalışmamızda terminal ER stresi ile ilişkili genlerde de hipometilasyon tespit edildiğinden, bu veriler terminal ER stresinin MAOA'yı aktive ettiğini ve dopamin azalmasına ve PD oluşumuna katkıda bulunduğunu göstermektedir.

Otofaji izole sitozolik materyallerin çift membranlı bir vezikül içerisinde lizozoma taşınarak degradasyonunu sağlayan bir yoldur. Değişik hücreli organellerin turnoverında görev alan değişik otofaji formları tanımlanmıştır. Nöronal otofaji, sinaptik plastisite, glial hücrelerde anti-inflamatuar fonksiyon, oligodendrosit gelişimi ve miyelinsasyon süreci için gereklidir. Nöronlar post mitotik hücreler olduğundan aggregasyona yatkın proteinler hücre bölünmesiyle seyreltilmez. Dolayısıyla nöronlarda UPR ve otofaji gibi iyi regüle edilmiş protein kalite kontrol sistemlerinin bulunması gerekmektedir. Nörodejeneratif hastalıklarda üç ana otofaji düzensizliği gözlenmiştir: (1) yetersiz otofaji aktivasyonu, (2) azalmış lizozomal fonksiyona bağlı otofaji disfonksiyon ve (3) otofajinin patolojik aktivasyonu ile ilgili otofajik stres (93). Otofaji fonksiyon bozuklukları özellikle Alzheimer, Parkinson, Huntington, multiple skleroz ve amiyotrofik lateral skleroz gibi hastalıkların patolojisinde yer almaktadır (1, 94, 95).

Otofajik nöroproteksiyon makrotofaji, mikrotofaji ve şaperon aracılıklı otofaji olmak üzere üç ana yolak üzerinden sağlanmaktadır (93, 96). Mikrotofaji ve şaperon aracılıklı otofajide görev alan LRRK2 daha çok OD PH oluşumunda sorumlu gen olarak tanınmaktadır. LRRK farmakolojik inhibisyonu ile alfa sinükleinin lizozomal yıkım ile azaldığı gösterilmiştir (97) ve LRRK2 fonksiyon kazandıran mutasyonlarında otofaji üzerinde zararlı olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur (98-100). Yu-yan Tan ve arkadaşları SNCA ve LRRK2 gen metilasyon düzeyini CpG spesifik bölgelerde bilsülfid spesifik PCR bazlı sekanslama ile değerlendirmişler ancak LRRK2 metilasyon

düzeyinde bir farklılık saptamamışlardır (101). Bizim çalışmamız bu çalışmanın aksine otofaji yollarında disfonksiyon yaptığı bilinen LRRK2 geninde kontrollerle karşılaştırıldığında daha az metile olduğunu saptadık (LRRK2 p=0.043). LRRK2 ve ailesel PH arasındaki ilişki bilindiğinden mevcut genin hipometilasyonu fonksiyon kazandıran mutasyonlarda olduğu gibi PH patogeneze yönelik rolünü çalışmamız da göstermektedir.

Otofagozom zarının, p62 ve NBR1 gibi adaptör proteinlerle etkileşim yoluyla her yerde bulunan proteinleri ve organelleri seçici olarak tanıyabildiği gösterilmiştir. Bu proteinler aggregate olan proteinlerdeki ubiquitin ile etkileşime girmektedirler. NBR1'in özellikle levı cisimcikleri gibi sinükleinopatilerdeki agregatların otofagozoma girmesini sağlayarak nöroprotektif etkisi olduğu gösterilmiştir (102). Mitofajide de rol oynayan NBR1 otofaji de ana reseptörlerdendir ve agregatların degradasyona yönlendirilmesinde kilit rol oynar (103). Literatürde Parkinson hastalarında NBR1 gen ekspresyonunu etkileyen epigenetik düzenlenmesi ile ilgili bir veri bulunmamaktadır. Çalışmamız Parkinson hastalarının kontrollerle karşılaştırıldığında NBR1'in ekspresyonunun artırılmaya çalışılarak agregasyonu önlemeye yönelik otofajik yolların up regüle olduğunu göstermektedir. Bu veri ise otofajide görevli NBR1'in hipometilasyonunun LRRK2 geninde olduğu gibi patogeneze yönelik değil nöroproteksiyona yönelik sinükleinopati varlığına sekonder arttığını düşündürmektedir.

Otofajide diğer görevli proteinlerden biri olan GBA'yı kodlayan gen mutasyonu PH için bilinen en anlamlı gen mutasyonlarından biridir (96, 104-106). Lizozomal depo hastalığı olan Gaucher hastalığına neden olan enzim glukoserebrozidazdır (GCaz). GCaz alfa sinüklein ile pozitif geri besleme oluşturacak şekilde çift yönlü bir etkileşim içerisindedir (105). GBA mutasyonu sonucu alfa sinüklein agregasyonunun arttığı gösterilmiştir (107). Bozulmamış lizozomal fonksiyon ve uygun degradasyon, otofajik akım için kritik öneme sahiptir. İşlevsel bir otofaji yolu, mitofaji yoluyla hasarlı mitokondrinin etkin yenilenmesi için kilit belirleyicilerden biridir. GBA nöroprotektif etkisi bulunmaktadır (108). Çalışmamıza dahil edilen hastaların özgeçmişlerinde Gauher hastalığı bulunmamaktaydı. GBA metilasyonunun azalması alfa sinüklein agregasyonunu azaltmaya yönelik sekonder olarak gelişen reaktif bir sonuç olarak yorumlanabilir.

PRKN mutasyonu ile otozomal resesif erken başlangıçlı (juvenil) PH geliştiği bilinmektedir. PRKN PINK ile etkileşime girerek hasarlanmış mitokondrilerin

temizlenmesi için mitofajiyi indükleyerek otofajik rol üstlenmektedir (109). Eryılmaz IE ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada erken başlangıçlı ve PRKN mutasyonu bilinen hastaların defektif PRKN geninde hipometilasyon olduğu gösterilmiştir (110). Yani Parkinson gelişiminde hasarlanmış mitokondri patogenetik süreçte rol oynuyorsa PRKN gen ekspresyonu arttırılarak reaktif olarak mitofaji üzerinden nöroprotektif rol oynuyor olabileceği düşünülebilir. Çalışmamıza dahil edilen hastaların Parkinson semptomları 50 yaş üzerinde geliştiği için hastaların PRKN mutasyonuna bağlı juvenil Parkinson olmadıkları bilinmektedir. Çalışmamızda GBA ve NBR1’de olduğu gibi nöroprotektif hücresel süreçlerde PRKN hipometilasyonunun da görev aldığı saptanmıştır.

DNA metilasyonunun nörodejeneratif hastalıklardaki rolü son zamanlarda yoğun olarak araştırılan bir konudur (5). PH’nda DNA metilasyon düzeylerinin patogeneizde rol onayabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (111). Ancak bu çalışmalarda tüm genom metilasyon değişiklikleri incelenerek saptanan genlerin hangi mekanizmalarla ilişkili olabileceği yorumlanmıştır (112, 113) Bu metodoloji ile yapılan çalışmalarda belli bir mekanizmayı etkileyebilecek diğer faktörlerin dışlanması mümkün değildir. Dolayısıyla elde edilen verilerin olası patofizyolojideki rolü tartışmalıdır. Çalışmamızda ise belli bir patofizyoloji ile ilgili genler seçilmiştir. Bu mekanizmayı etkileyebilecek diğer etkenler (ER stresi etkileyebilecek DM, kanser, koroner arter hastalığı gibi) dışlandığı için asıl hastalıktaki rolü daha net olarak gösterilebilmiştir. Örneğin çalışmamızda PERK ve IRE1 yolağında terminal ER stres ilişkili proteinleri kodlayan genlerdeki hipometilasyon terminal ER stresi etkileyebilecek diğer faktörler dışlandığından PH patofizyolojisiyle daha kuvvetli bir şekilde ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamıza dahil edilen tüm genler genel olarak ele alınacak olursa apoptoz üzerinden asıl nörodejeneratif hücresel süreçlerde terminal ER stres ilişkili eIF2 α , ATF6, CHOP ve ASK1 ve otofajiyi bozan LRRK2 genlerinin epigenetik regülasyonu etkinken patolojik aggregasyona sekonder nöroprotektif hücresel süreçlerde NBR1, GBA ve PRKN genlerinin epigenetik regülasyonu etkindir. Ancak nöroprotektif hücresel süreçler ile nörodejeneratif süreçler arasındaki dengenin nörodejenerasyona kaymasında epigenetik regülasyonun etkili olduğu söylenebilir. Bu dengenin bozulmasına ve nörodejenerasyonun hızlanmasına etki edebilecek pek çok epigenetik etken vardır. Bu faktörler arasında en önemlileri viral enfeksiyonlar, çevresel toksinler

ve periferik inflamasyon olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle hastaların gen metilasyon düzeyleri ile demografik, klinik ve inflamatuvar markerları ile korelasyonunun değerlendirdik.

Hastaların demografik özellikleri ve klinik özelliklerinden Schwab, Epworth, BPHDÖ ve H&Y skorları ile gen metilasyon düzeyleri arasında korelasyon saptanmamıştır. Ancak MMT skorları ile XBP1 gen metilasyonu arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Yani nöroprotektif olan XBP1 geninin metilasyonu arttıkça yani gen ekspresyonu azaldıkça hastaların minimal skorları artmış olarak izlenmektedir. Ancak literatürde XBP1 geninin Alzheimer hastalığında nöroprotektif olarak hafıza üzerine olumlu etkileri olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur (114, 115). Ancak bizim hastalarımızda tam tersi izlenmiştir. Bunun iki nedeni olabilir birincisi Alzheimer patolojisi ile Parkinson patolojisinin farklı olması ve farklı beyin bölgelerinde oluşmaya başlamasıdır. Yani Parkinson hastalığında asıl etkilenen substantia nigra hafıza üzerine etkili primer patoloji olmaması ancak ileri evrelerde patolojinin diğer beyin bölgelerine ilerlediği zaman bu korelasyonunun oluşabileceği düşünülmektedir. İkinci olasılık ise hastalarımızın yeni tanı Parkinson olması nedeniyle henüz demans gelişmemiş olmasıdır. Üstelik hastalarla kontroller arasında XBP1 metilasyon düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. Dolayısıyla XBP1 metilasyon düzeyi ile demans arasında bir yorum yapılması doğru olmayabilir.

PRKN mitofajiyi arttırarak nöroprotektif etki gösteren (116, 117) mutasyonu varlığında distoni, depresyon, anksiyete ve otonomik semptomlarla ilişkisi olduğu düşünülmektedir (118, 119). Yine PRKN gen ekspresyonunu arttıran hipometilasyon hastalarda kontrollerden daha fazlayken hastaların depresyon skorları ile metilasyon düzeyleri negatif korele olarak izlenmiştir. Yani PRKN metilasyonu azaldıkça depresyon skorunun arttığı izlenmiştir. Bunun da XBP1’de olduğu gibi tam tersi beklenmektedir. Ancak hastalarda PRKN ne kadar nöroprotektif olarak otofajiyi arttırdığı düşünülse de pek çok nörodejeneratif gen ekspresyonunun da olduğu bilinmektedir. PRKN gibi nöroprotektif faktörlere rağmen balansın nörodejenerasyona kayması klinik verilerin oluşmasında etkin olabilir. Yani depresyonu PRKN dışında pek çok faktör etkiliyor olabilir. Üstelik MMT skorlarında olduğu gibi çok az hastamızda depresyon var dedirtecek skor saptanmıştır. Dolayısıyla bu verinin de ileriki çalışmalarda depresyon saptanan ve saptanmayan gruplar arasında incelenmesi daha doğru sonuçlar verebilir.

DNA metilasyon paternlerinin hem intrakranial alanda hem de kanda benzer özellikler gösterdiği pek çok çalışma ile gösterildiğinden (120) dolayı çalışmamızda hastaların kanlarından DNA izole edilerek metilasyon paternleri incelenmiştir. Parkinson hastalığının patogenezinde DNA metilasyon çalışmaları erken tanı aracı ve gelecek farmakolojik tedavilerin geliştirilmesi için yürütülmektedir (5). Uluslararası Parkinson Hastalığı Genomik Konsorsiyumu tarafından 2011 yılında yapılan geniş bir genomik çalışmada PH hastalarının beyin örneklerinde bazı genlerin proksimal CpG bölgelerinde DNA metilasyon değişiklikleri saptanmıştır (121). Ancak bu çalışma postmortem çalışma olup hastalık progresyonunun değişikliklerini aktif olarak gösteremez. Ayrıca beyin dokusundan örnek alımı çok kısıtlı olup etik açıdan da sorun yaratmaktadır. En iyi bilinen PH genlerinden SNCA ile pek çok epigenetic çalışma yapılmıştır. SNCA gen ekspresyonunun düzenlenmesinde ve Parkinson oluşumunda SNCA metilasyon değişikliğinin etkili olduğu gösterilmiştir SNCA geninde tanımlanan intron 1 hipometilasyonu ise PH gelişimi için bağımsız risk faktörü olarak tanımlanmıştır. (122). LRRK2 geni için yapılan epigenetic çalışmada Tan ve arkadaşları kontrollerle arasında fark saptamamışlardır (101). Ancak bu çalışmada bisülfid bazlı metilasyon değişikliği araştırılmıştır ancak LRRK2 geninin bir adet CpG adası içerdiği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda MSRE ile DNA kesilmiş olup LRRK2 promoter bölgesi 12 ayrı yerinden kesilmiştir ve metilasyon içerebilecek tüm bölgeler kesildiğinden metile olmuş ve olmamış gen miktarı çok daha spesifik belirlenebilmiştir. Yine GWAS çalışmaları ile pek çok gende metilasyon değişikliği olduğu belirtilmiştir (123). Bu genlerin hangi yollarla ilişkili olduğu belirtilerek patogeneizde rol oynayabilecek sinyal yolları ile ilgili fikir edinilebileceği belirtilmiştir. Ancak GWAS çalışmalarında pek çok veri tabanı birleştirilerek oluşturulduğundan ilişkili saptanan sinyal yolağını etkileyebilecek diğer faktörlerin varlığı belirlenememektedir. Bu da elde edilen sonucun patogeneздеki yerinin doğruluğu hakkında şüphe yaratmaktadır.

Parkinson hastalığında proinflatuar sitokinlerin ve inflamatuvar markerların arttığına dair pek çok kanıt vardır (124). Hem periferal hem santral inflamasyon Parkinson gelişiminde kolaylaştırıcı rol oynamaktadır (125-127). Özellikle barsak inflamasyonunun, C reaktif protein (CRP), interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör (TNF) alfa gibi sistemik inflamasyonun ve tip 2 diabetin PH ile ilişkisi gösterilmiştir (128, 129). Bununla birlikte PH gelişmeden uzun dönem öncesinde inflamasyon varlığı PH gelişim riskini azalttığına dair kanıtlar da mevcuttur. Örneği sigara kullanımı (130)

hiperürisemi (131) ve gençken yüksek ESR'ye sahip olmanın PH riskini düşürdüğü gösterilmiştir (132). Biz de hastaların sistemik inflamasyon markerları olarak değerlendirilebilecek M/HDL, trombosit lenfosit oranı (T/L), lenfosit monosit oranı (L/M), CRP ve sedimentasyon ile ER stres ve otofaji gen metilasyon düzeyleri arasındaki korelasyonu değerlendirdik. CHOP metilasyonu ile M/HDL arasında negatif korelasyon nörodejeneratif süreçlerin artması ile inflamasyonun da arttığını düşündürmektedir. Aynı şekilde LRKK2 metilasyonu ile sedimentasyonun negatif korelasyonu da nörodejenratif süreçle inflamasyonun tetiklendiğini düşündürmektedir. XBP1 nöroprotektif özellik taşımakta ancak hastalarla kontroller arasında metilasyon farkı istatistiksel olarak anlamlı olmadığından metilasyonu ile sedimantasyonun negatif korelasyonu nörodejeneratif süreçler tarafından baskılanmış olabilir. Otofajinin ve ER stresin adaptif olarak uzun süre aktivasyonu PH başlamadan önce inflamasyonun koruyuculuğunu, PH başladıktan sonra inflamasyonun ER stresin terminal evreye girmesine katkı sağlayarak PH'yi kötüleştirmesini açıklayabilir. Bu hipotezi açıklayacak ek çalışmaların yapılması ER stres ve otofajinin PH patogenezindeki rolünü daha iyi ortaya çıkarmaya yardımcı olabilir.

Hasta sayısının az olması çalışmamızın önemli kısıtlılıklarındandır. Çok daha geniş hasta sayıları ile bulguların desteklenmesi literatüre ek katkı sağlayacaktır. Bir diğer önemli kısıtlılık ise hastaların ER stres ve otofaji yollarıyla ilişkili gen metilasyon seviyeleri periferal kandan değerlendirilmiştir. Ancak Periferal kan DNA metilasyonu seviyeleri ile beyin dokusundaki örneklerde DNA metilasyon profillerinin benzer olduğu hem Parkinson hem Alzheimer gibi pek çok nörodejeneratif hastalıkta gösterilmiştir (111, 133).

Sonuç olarak çalışmamızda PH hastalığının patogenezinde rol alan moleküler mekanizmalardan önemli role sahip ER stres, otofaji ve epigenetik regülasyon arasında ilişki mevcuttur. Bu ilişki nörodejeneratif ve nöroprotektif yollar arasındaki dengeyi oluşturmaktadır. Nörodejeneratif süreci hızlandırdığı düşünülen ER stresin terminal ER strese dönüşmesinde ilişkili genlerde hipometilasyon önemli role sahiptir. Özellikle PH geliştikten sonra bu genlerdeki hipometilasyon ve inflamasyonun çift yönlü etkileşimi PH kliniğinin ilerlemesinde önemli bir etkidir. Bu verilerin desteklenmesi amaçlı daha geniş gruplarda çalışılması literatüre ek katkı sağlayabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Parkinson hastalığının patogenezinin aydınlatılması için yapılan her çalışma hastalığın erken tanınmasında saptanabilecek biyomarkerların belirlenmesi ve patogeneze yönelik tedavilerin geliştirilmesinde büyük öneme sahiptir. Çalışmamız ile elde edilen sonuçlar aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

1. ER streste Parkinson hastalığında adaptif yollarla terminal yollar arasındaki denge terminal yollara kaymaktadır. Terminal ER stress ilişkili proteinlerin genlerindeki metilasyon düzeyleri hastalık tanısının koyulduğu erken dönemde bile anlamlı saptanması bu verilerin biyomarker olarak kullanılabilirliğini düşündürmektedir.
2. Bu dengenin asıl düzenleyici protein değişikliği XBP1, CHOP ve ASK1 gen ekspresyonlarının metilasyon değişikliği ile sağlandığı söylenebilir.
3. Parkinson hastalığının tedavi çalışmalarında CHOP ve ASK1 proteinlerinin gen ekspresyonunu baskılamak için XBP1 proteininin gen ekspresyonunu arttıracak moleküllerinin geliştirilmesi önerilebilir.
4. Otofajik yolların genel olarak Parkinson hastalığı geliştikten sonra agregat proteinlerin temizlenmesini arttırmak için sekonder olarak arttığı düşünülmektedir. LRRK2 istisnai olarak Parkinson hastalığında mutasyonu ile PH geliştiği belirlenmiş genlerden biridir ve otofajik yollarda görevlidir. Bu nedenle LRRK2'nin sadece mutasyonu değil gen metilasyon değişikliği de primer olarak PH patogenezinde yer alıyor olduğu söylenebilir.
5. Metilasyon gen ekspresyonunu etkileyerek Parkinson patogenezinde rol oynayan epigenetik mekanizmalardan biridir. Metilasyon değişikliği hem periferal hem de santral olarak benzer paternlere sahip olduğundan kanda Parkinson ilişkili gen metilasyon değişikliklerinin araştırılması biyomarker olarak kullanılabilirliğini düşündürmektedir.
6. Biyomarker olarak metilasyon değişikliği araştırılacak genler arasında terminal ER stress ve otofaji ilişkili genlerin de yer alması gerektiği söylenebilir.

7. Epigenetik regülasyonun değişimine neden olan etkenlerden biri de inflamasyondur ve inflamasyon ve metilasyon değişiklikleri birbiri ile çift yönlü bir etkileşim içerisinde olabilir. İnflamasyon metilasyonu değiştirebilirken metilasyon değişikliği ile oluşan nörodejeneratif süreçler de inflamasyonu tetiklemektedir.
8. Hastaların klinik özellikleri ile ER stress ve otofaji ilişkili genlerin metilasyonu arasında bir ilişki saptanmamıştır. Bu da kliniğin daha çok dejenerasyonunun patogenezi ile değil yaygınlığı ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.



KAYNAKLAR

1. Maiti P, Manna J, Dunbar GL. Current understanding of the molecular mechanisms in Parkinson's disease: Targets for potential treatments. *Transl Neurodegener* 2017, 6:28.
2. Xiang C, Wang Y, Zhang H, Han F. The role of endoplasmic reticulum stress in neurodegenerative disease. *Apoptosis* 2017, 22(1):1-26.
3. Rocha Cabrero F, Morrison EH. Lewy Bodies. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536956/StatPearlsPublishing> Son Erişim Tarihi: 11 Temmuz 2021.
4. Oakes SA, Papa FR. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annu Rev Pathol.* 2015, 10:173-94.
5. Miranda-Morales E, Meier K, Sandoval-Carrillo A, Salas-Pacheco J, Vázquez-Cárdenas P, Arias-Carrión O. Implications of DNA Methylation in Parkinson's Disease. *Front Mol Neurosci.* 2017, 10:225.
6. Wang C, Chen L, Yang Y, Zhang M, Wong G. Identification of potential blood biomarkers for Parkinson's disease by gene expression and DNA methylation data integration analysis. *Clin Epigenetics.* 2019, 11(1):24.
7. Reich SG, Savitt JM. Parkinson's Disease. *Med Clin North Am.* 2019, 103(2):337-50.
8. Radhakrishnan DM, Goyal V. Parkinson's disease: A review. *Neurol India.* 2018, 66:S26-S35.
9. Niemann N, Jankovic J. Juvenile parkinsonism: Differential diagnosis, genetics, and treatment. *Parkinsonism Relat Disord.* 2019, 67:74-89.
10. Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, Steeves TD. The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord* 2014, 29:1583
11. Sveinbjornsdottir S. The clinical symptoms of Parkinson's disease. *J Neurochem.* 2016, 139(1):318-24.
12. Schapira AHV, Chaudhuri KR, Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease. *Nat Rev Neurosci.* 2017, 18(7):435-50.
13. Li W, Lao-Kaim NP, Roussakis AA, Martín-Bastida A, Valle-Guzman N, Paul G, Loane C, Widner H, Politis M, Foltynie T, Barker RA, Piccini P. ¹¹C-PE2I and ¹⁸F-Dopa PET for assessing progression rate in Parkinson's: A longitudinal study. *Mov Disord.* 2018, 33(1):117-27.

14. De Pablo-Fernández E, Lees AJ, Holton JL, Warner TT. Prognosis and Neuropathologic Correlation of Clinical Subtypes of Parkinson Disease. *JAMA Neurol.* 2019, 76(4):470-9.
15. Prange S, Danaila T, Laurencin C, Caire C, Metereau E, Merle H, Broussolle E, Maucourt-Boulch D, Thobois S. Age and time course of long-term motor and nonmotor complications in Parkinson disease. *Neurology* 2019, 92(2):e148-e160.
16. Parnetti L, Gaetani L, Eusebi P, Paciotti S, Hansson O, El-Agnaf O, Mollenhauer B, Blennow K, Calabresi P. CSF and blood biomarkers for Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2019, 18(6):573-86.
17. Ryman SG, Poston KL. MRI biomarkers of motor and non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2020, 73:85-93.
18. Lotankar S, Prabhavalkar KS, Bhatt LK. Biomarkers for Parkinson's Disease: Recent Advancement. *Neurosci Bull.* 2017, 33(5):585-97.
19. Nguyen M, Wong YC, Ysselstein D, Severino A, Krainc D. Synaptic, Mitochondrial, and Lysosomal Dysfunction in Parkinson's Disease. *Trends Neurosci.* 2019, 42(2):140-9.
20. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkmann J, Schrag AE, Lang AE. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2017, 3:17013.
21. Cabreira V, Massano J. Doença de Parkinson: Revisão Clínica e Atualização (Parkinson's Disease: Clinical Review and Update). *Acta Med Port.* 2019, 32(10):661-70.
22. Tarakad A, Jankovic J. Diagnosis and Management of Parkinson's Disease. *Semin Neurol.* 2017, 37(2):118-26.
23. Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA.* 2020, 323(6):548-60.
24. Dietrichs E, Odin P. Algorithms for the treatment of motor problems in Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand.* 2017, 136(5):378-85.
25. Jankovic J, Tan EK. Parkinson's disease: etiopathogenesis and treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2020, 91(8):795-808.
26. Rabiei Z, Solati K, Amini-Khoei H. Phytotherapy in treatment of Parkinson's disease: a review. *Pharm Biol.* 2019, 57(1):355-62.
27. Simon DK, Tanner CM, Brundin P. Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology. *Clin Geriatr Med.* 2020, 36(1):1-12.

28. Zhang PL, Chen Y, Zhang CH, Wang YX, Fernandez-Funez P. Genetics of Parkinson's disease and related disorders. *J Med Genet.* 2018, 55(2):73-80.
29. Reeve A, Simcox E, Turnbull D. Ageing and Parkinson's disease: why is advancing age the biggest risk factor?. *Ageing Res Rev.* 2014, 14(100):19-30.
30. McGregor MM, Nelson AB. Circuit Mechanisms of Parkinson's Disease. *Neuron.* 2019, 101(6):1042-56.
31. Deng YP, Lei WL, Reiner A. Differential perikaryal localization in rats of D1 and D2 dopamine receptors on striatal projection neuron types identified by retrograde labeling. *J Chem Neuroanat.* 2006, 32(2-4):101-16.
32. Dickson DW. Parkinson's disease and parkinsonism: neuropathology. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012, 2(8):a009258.
33. Henderson MX, Trojanowski JQ, Lee VM. α -Synuclein pathology in Parkinson's disease and related α -synucleinopathies. *Neurosci Lett.* 2019, 709:134316.
34. Dettmer U, Newman AJ, Soldner F, Luth ES, Kim NC, von Saucken VE, Sanderson JB, Jaenisch R, Bartels T, Selkoe D. Parkinson-causing α -synuclein missense mutations shift native tetramers to monomers as a mechanism for disease initiation. *Nat Commun.* 2015, 6:7314.
35. Mbefo MK, Paleologou KE, Boucharaba A, Oueslati A, Schell H, Fournier M, Olschewski D, Yin G, Zweckstetter M, Masliah E, Kahle PJ, Hirling H, Lashuel HA. Phosphorylation of synucleins by members of the Polo-like kinase family. *J Biol Chem.* 2010, 285(4):2807-22.
36. Sugeno N, Takeda A, Hasegawa T, Kobayashi M, Kikuchi A, Mori F, Wakabayashi K, Itoyama Y. Serine 129 phosphorylation of alpha-synuclein induces unfolded protein response-mediated cell death. *J Biol Chem.* 2008, 283(34):23179-88.
37. Rocha EM, Smith GA, Park E, Cao H, Graham AR, Brown E, McLean JR, Hayes MA, Beagan J, Izen SC, Perez-Torres E, Hallett PJ, Isacson O. Sustained Systemic Glucocerebrosidase Inhibition Induces Brain α -Synuclein Aggregation, Microglia and Complement C1q Activation in Mice. *Antioxid Redox Signal.* 2015, 23(6):550-64.
38. Alvarez-Erviti L, Rodriguez-Oroz MC, Cooper JM, Caballero C, Ferrer I, Obeso JA, Schapira AH. Chaperone-mediated autophagy markers in Parkinson disease brains. *Arch Neurol.* 2010, 67(12):1464-72.

39. Bose A, Beal MF. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *J Neurochem.* 2016, 139(1):216-31.
40. Zhang X, Gao F, Wang D, Li C, Fu Y, He W, Zhang J. Tau Pathology in Parkinson's Disease. *Front Neurol.* 2018, 9:809.
41. Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. *Nat Cell Biol.* 2011, 13(3):184-90.
42. Marchi S, Patergnani S, Missiroli S, Morciano G, Rimessi A, Wieckowski MR, Giorgi C, Pinton P. Mitochondrial and endoplasmic reticulum calcium homeostasis and cell death. *Cell Calcium.* 2018, 69:62-72.
43. Needham PG, Guerriero CJ, Brodsky JL. Chaperoning Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation (ERAD) and Protein Conformational Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2019, 11(8):a033928.
44. Ghemrawi R, Khair M. Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020, 21(17):6127.
45. Zhang IX, Raghavan M, Satin LS. The Endoplasmic Reticulum and Calcium Homeostasis in Pancreatic Beta Cells. *Endocrinology.* 2020, 161(2):bqz028.
46. Yi S, Chen K, Zhang L, Shi W, Zhang Y, Niu S, Jia M, Cong B, Li Y. Endoplasmic Reticulum Stress Is Involved in Stress-Induced Hypothalamic Neuronal Injury in Rats via the PERK-ATF4-CHOP and IRE1-ASK1-JNK Pathways. *Front Cell Neurosci.* 2019, 13:190.
47. Qi Z, Chen L. Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy. *Adv Exp Med Biol.* 2019, 1206:167-77.
48. Costa CAD, Manaa WE, Duplan E, Checler F. The Endoplasmic Reticulum Stress/Unfolded Protein Response and Their Contributions to Parkinson's Disease Physiopathology. *Cells.* 2020, 9(11):2495.
49. Hoozemans JJ, M.; Van Haastert ES, Eikelenboom P, de Vos RA, Rozemuller JM, Scheper W. Activation of the unfolded protein response in Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007, 354(3):707-11
50. Ruggiano A, Foresti O, Carvalho P. Quality control: ER-associated degradation: protein quality control and beyond. *J Cell Biol.* 2014, 204(6):869-79.
51. Cherra SJ 3rd, Chu CT. Autophagy in neuroprotection and neurodegeneration: A question of balance. *Future Neurol.* 2008, 3(3):309-23.
52. Li WW, Li J, Bao JK. Microautophagy: lesser-known self-eating. *Cell Mol Life Sci.* 2012, 69(7):1125-36.

53. Nah J, Yuan J, Jung YK. Autophagy in neurodegenerative diseases: from mechanism to therapeutic approach. *Mol Cells*. 2015, 38(5):381-9.
54. Orenstein SJ, Kuo SH, Tasset I, Arias E, Koga H, Fernandez-Carasa I, Cortes E, Honig LS, Dauer W, Consiglio A, Raya A, Sulzer D, Cuervo AM. Interplay of LRRK2 with chaperone-mediated autophagy. *Nat Neurosci*. 2013, 16(4):394-406.
55. Alcalay RN, Caccappolo E, Mejia-Santana H, Tang MX, Rosado L, Ross BM, Verbitsky M, Kisselev S, Louis ED, Comella C, Colcher A, Jennings D, Nance MA, Bressman SB, Scott WK, Tanner C, Mickel S, Andrews H, Waters C, Fahn S, Cote L, Frucht S, Ford B, Rezak M, Novak K, Friedman JH, Pfeiffer R, Marsh L, Hiner B, Siderowf A, Ottman R, Marder K, Clark LN. Frequency of known mutations in early-onset Parkinson disease: implication for genetic counseling: the consortium on risk for early onset Parkinson disease study. *Arch Neurol*. 2010, 67(9):1116-22.
56. Spencer B, Potkar R, Trejo M, Rockenstein E, Patrick C, Gindi R, Adame A, Wyss-Coray T, Masliah E. Beclin 1 gene transfer activates autophagy and ameliorates the neurodegenerative pathology in alpha-synuclein models of Parkinson's and Lewy body diseases. *J Neurosci*. 2009, 29(43):13578-88.
57. Coune PG, Bensadoun JC, Aebischer P, Schneider BL. Rab1A over-expression prevents Golgi apparatus fragmentation and partially corrects motor deficits in an alpha-synuclein based rat model of Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis*. 2011, 1(4):373-87.
58. Decressac M, Mattsson B, Weikop P, Lundblad M, Jakobsson J, Björklund A. TFEB-mediated autophagy rescues midbrain dopamine neurons from α -synuclein toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013, 110(19):E1817-26.
59. Svarcbahs R, Jääntti M, Kilpeläinen T, Julku UH, Urvas L, Kivioja S, Norrbacka S, Myöhänen TT. Prolyl oligopeptidase inhibition activates autophagy via protein phosphatase 2A. *Pharmacol Res*. 2020, 151:104558.
60. Perier C, Vila M. Mitochondrial biology and Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012, 2(2):a009332
61. Wilkins HM, Carl SM, Swerdlow RH. Cytoplasmic hybrid (cybrid) cell lines as a practical model for mitochondriopathies. *Redox Biol*. 2014, 2:619–31
62. Neal M, Richardson JR. Epigenetic regulation of astrocyte function in neuroinflammation and neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018, 1864(2):432-43.

63. Moore LD, Le T, Fan G. DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology*. 2013, 38(1):23-38.
64. Zhang Y, Sun Z, Jia J, Du T, Zhang N, Tang Y, Fang Y, Fang D. Overview of Histone Modification. *Adv Exp Med Biol*. 2021, 1283:1-16.
65. Lu TX, Rothenberg ME. MicroRNA. *J Allergy Clin Immunol*. 2018, 141(4):1202-7.
66. Beach TG, Adler CH, Lue L, Sue LI, Bachalakuri J, Henry-Watson J, Sasse J, Boyer S, Shirohi S, Brooks R, Eschbacher J, White CL 3rd, Akiyama H, Caviness J, Shill HA, Connor DJ, Sabbagh MN, Walker DG; Arizona Parkinson's Disease Consortium. Unified staging system for Lewy body disorders: correlation with nigrostriatal degeneration, cognitive impairment and motor dysfunction. *Acta Neuropathol*. 2009, 117(6):613-34.
67. URL:<https://www.sralab.org/rehabilitation-measures/schwab-and-england-activities-daily-living-scale> Son Erişim Tarihi: 16.10.2021.
68. Güngen C, Ertan T, Eker E, Yaşar R, Engin F. Standardize Mini Mental test'in türk toplumunda hafif demans tanısında geçerlik ve güvenilirliği (Reliability and validity of the standardized Mini Mental State Examination in the diagnosis of mild dementia in Turkish population). *Türk Psikiyatri Derg*. 2002, 13(4):273-81.
69. Ertan, T, Eker E, Şar V. Geriyatrik Depresyon Ölçeğinin Türk yaşlı popülasyonunda geçerlilik ve güvenilirliği. *Nöropsikiyatri Arşivi*. 1997, 34(2):62-71
70. Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep* 1991, 14:540-5
71. Karakoç Ö, Akçam T, Gerek M, Birkent H. Reliability of the Epworth sleepiness scale on snoring and sleep apnea patients. *KBB-Forum* 2007, 6(3):86-9
72. Simon DK, Tanner CM, Brundin P. Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology. *Clin Geriatr Med*. 2020, 36(1):1-12.
73. Balestrino R, Schapira AHV. Parkinson disease. *Eur J Neurol*. 2020, 27(1):27-42.
74. Zhu L, Zhou Q, He L, Chen L. Mitochondrial unfolded protein response: An emerging pathway in human diseases. *Free Radic Biol Med*. 2021, 163:125-34.
75. Hetz C, Papa FR. The Unfolded Protein Response and Cell Fate Control. *Mol Cell*. 2018, 69(2):169-81.
76. Iurlaro R, Muñoz-Pinedo C. Cell death induced by endoplasmic reticulum stress. *FEBS J*. 2016, 283(14):2640-52.

77. Hoozemans JJ, van Haastert ES, Eikelenboom P, de Vos RA, Rozemuller JM, Scheper W. Activation of the unfolded protein response in Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007, 354(3):707-11.
78. Colla E, Coune P, Liu Y, Pletnikova O, Troncoso JC, Iwatsubo T, Schneider BL, Lee MK. Endoplasmic reticulum stress is important for the manifestations of α -synucleinopathy in vivo. *J Neurosci.* 2012, 32(10):3306-20.
79. Holtz WA, O'Malley KL. Parkinsonian mimetics induce aspects of unfolded protein response in death of dopaminergic neurons. *J Biol Chem.* 2003, 278(21):19367-77.
80. Bellucci A, Navarria L, Zaltieri M, Falarti E, Bodei S, Sigala S, Battistin L, Spillantini M, Missale C, Spano P. Induction of the unfolded protein response by α -synuclein in experimental models of Parkinson's disease. *J Neurochem.* 2011, 116(4):588-605.
81. Varma D, Sen D. Role of the unfolded protein response in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2015, 75(1):1-26.
82. Liu C, Yan DY, Wang C, Ma Z, Deng Y, Liu W, Xu B. IRE1 signaling pathway mediates protective autophagic response against manganese-induced neuronal apoptosis in vivo and in vitro. *Sci. Total Environ.* 2020, 712:136480
83. Ray A, Zhang S, Rentas C, Caldwell KA, Caldwell GA. RTCB-1 mediates neuroprotection via XBP-1 mRNA splicing in the unfolded protein response pathway. *J Neurosci.* 2014, 34(48):16076-85.
84. Sado M, Yamasaki Y, Iwanaga T, Onaka Y, Ibuki T, Nishihara S, Mizuguchi H, Momota H, Kishibuchi R, Hashimoto T, Wada D, Kitagawa H, Watanabe TK. Protective effect against Parkinson's disease-related insults through the activation of XBP1. *Brain Res.* 2009, 1257:16-24.
85. Si L, Xu T, Wang F, Liu Q, Cui M. X-box-binding protein 1-modified neural stem cells for treatment of Parkinson's disease. *Neural Regen Res.* 2012, 7(10):736-40.
86. Mou Z, Yuan YH, Zhang Z, Song LK, Chen NH. Endoplasmic reticulum stress, an important factor in the development of Parkinson's disease. *Toxicol Lett.* 2020, 324:20-9.
87. Mercado G, Castillo V, Soto P, Sidhu A. ER stress and Parkinson's disease: Pathological inputs that converge into the secretory pathway. *Brain Res.* 2016, 1648(Pt B):626-32.

88. Egawa N, Yamamoto K, Inoue H, Hikawa R, Nishi K, Mori K, Takahashi R. The endoplasmic reticulum stress sensor, ATF6 α , protects against neurotoxin-induced dopaminergic neuronal death. *J Biol Chem*. 2011, 286(10):7947-57.
89. Gorbatyuk MS, Shabashvili A, Chen W, Meyers C, Sullivan LF, Salganik M, Lin JH, Lewin AS, Muzyczka N, Gorbatyuk OS. Glucose regulated protein 78 diminishes α -synuclein neurotoxicity in a rat model of Parkinson disease. *Mol Ther*. 2012, 20(7):1327-37.
90. Hamadjida A, Nuara SG, Frouni I, Kwan C, Bédard D, Gourdon JC, Huot P. Monoamine oxidase A inhibition as monotherapy reverses parkinsonism in the MPTP-lesioned marmoset. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2020, 393(11):2139-44.
91. Kolla NJ, Bortolato M. The role of monoamine oxidase A in the neurobiology of aggressive, antisocial, and violent behavior: A tale of mice and men. *Prog Neurobiol*. 2020, 194:101875.
92. Deshwal S, Forkink M, Hu CH, Buonincontri G, Antonucci S, Di Sante M, Murphy MP, Paolocci N, Mochly-Rosen D, Krieg T, Di Lisa F, Kaludercic N. Monoamine oxidase-dependent endoplasmic reticulum-mitochondria dysfunction and mast cell degranulation lead to adverse cardiac remodeling in diabetes. *Cell Death Differ*. 2018, 25(9):1671-85.
93. Wang B, Abraham N, Gao G, Yang Q. Dysregulation of autophagy and mitochondrial function in Parkinson's disease. *Transl Neurodegener*. 2016, 5:19.
94. Li Q, Liu Y, Sun M. Autophagy and Alzheimer's Disease. *Cell Mol Neurobiol*. 2017, 37(3):377-88.
95. Filfan M, Sandu RE, Zăvăleanu AD, GreșiȚă A, Glăvan DG, Olaru DG, Popa-Wagner A. Autophagy in aging and disease. *Rom J Morphol Embryol*. 2017, 58(1):27-31.
96. Hou X, Watzlawik JO, Fiesel FC, Springer W. Autophagy in Parkinson's Disease. *J Mol Biol*. 2020, 432(8):2651-72.
97. Bae EJ, Kim DK, Kim C, Mante M, Adame A, Rockenstein E, Ulusoy A, Klinkenberg M, Jeong GR, Bae JR, Lee C, Lee HJ, Lee BD, Di Monte DA, Masliah E, Lee SJ. LRRK2 kinase regulates α -synuclein propagation via RAB35 phosphorylation. *Nat Commun*. 2018, 9(1):3465.

98. Alegre-Abarrategui J, Christian H, Lufino MM, Mutihac R, Venda LL, Ansorge O, Wade-Martins R. LRRK2 regulates autophagic activity and localizes to specific membrane microdomains in a novel human genomic reporter cellular model. *Hum Mol Genet.* 2009, 18(21):4022-34.
99. Plowey ED, Cherra SJ 3rd, Liu YJ, Chu CT. Role of autophagy in G2019S-LRRK2-associated neurite shortening in differentiated SH-SY5Y cells. *J Neurochem.* 2008, 105(3):1048-56.
100. Bravo-San Pedro JM, Niso-Santano M, Gómez-Sánchez R, Pizarro-Estrella E, Aiastui-Pujana A, Gorostidi A, Climent V, López de Maturana R, Sanchez-Pernaute R, López de Munain A, Fuentes JM, González-Polo RA. The LRRK2 G2019S mutant exacerbates basal autophagy through activation of the MEK/ERK pathway. *Cell Mol Life Sci.* 2013, 70(1):121-36.
101. Tan YY, Wu L, Zhao ZB, Wang Y, Xiao Q, Liu J, Wang G, Ma JF, Chen SD. Methylation of α -synuclein and leucine-rich repeat kinase 2 in leukocyte DNA of Parkinson's disease patients. *Parkinsonism Relat Disord.* 2014, 20(3):308-13.
102. Xu W, Ocak U, Gao L, Tu S, Lenahan CJ, Zhang J, Shao A. Selective autophagy as a therapeutic target for neurological diseases. *Cell Mol Life Sci.* 2021, 78(4):1369-92.
103. Xu Y, Shen J, Ran Z. Emerging views of mitophagy in immunity and autoimmune diseases. *Autophagy.* 2020, 16(1):3-17.
104. Gan-Or Z, Liong C, Alcalay RN. GBA-Associated Parkinson's Disease and Other Synucleinopathies. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2018, 18(8):44.
105. Riboldi GM, Di Fonzo AB. GBA, Gaucher Disease, and Parkinson's Disease: From Genetic to Clinic to New Therapeutic Approaches. *Cells.* 2019, 8(4):364.
106. Alcalay RN, Levy OA, Waters CC, Fahn S, Ford B, Kuo SH, Mazzoni P, Pauciulo MW, Nichols WC, Gan-Or Z, Rouleau GA, Chung WK, Wolf P, Oliva P, Keutzer J, Marder K, Zhang X. Glucocerebrosidase activity in Parkinson's disease with and without GBA mutations. *Brain.* 2015, 138(Pt 9):2648-58.
107. Behl T, Kaur G, Fratila O, Buhac C, Judea-Pusta CT, Negrut N, Bustea C, Bungau S. Cross-talks among GBA mutations, glucocerebrosidase, and α -synuclein in GBA-associated Parkinson's disease and their targeted therapeutic approaches: a comprehensive review. *Transl Neurodegener.* 2021, 10(1):4.
108. Gegg ME, Schapira AH. Mitochondrial dysfunction associated with glucocerebrosidase deficiency. *Neurobiol Dis.* 2016, 90:43-50.

109. Karabiyik C, Lee MJ, Rubinsztein DC. Autophagy impairment in Parkinson's disease. *Essays Biochem.* 2017, 61(6):711-20.
110. Eryilmaz IE, Cecener G, Erer S, Egeli U, Tunca B, Zarifoglu M, Elibol B, Bora Tokcaer A, Saka E, Demirkiran M, Akbostanci C, Dogu O, Colakoglu B, Kenangil G, Kalegasi H. Epigenetic approach to early-onset Parkinson's disease: low methylation status of SNCA and PARK2 promoter regions. *Neurol Res.* 2017, 39(11):965-72.
111. Chuang YH, Paul KC, Bronstein JM, Bordelon Y, Horvath S, Ritz B. Parkinson's disease is associated with DNA methylation levels in human blood and saliva. *Genome Med.* 2017, 9(1):76.
112. Erratum: Genome-wide Brain DNA methylation analysis suggests epigenetic reprogramming in Parkinson disease. *Neurol Genet.* 2019, 5(4):e355.
113. Henderson-Smith A, Fisch KM, Hua J, Liu G, Ricciardelli E, Jepsen K, Huentelman M, Stalberg G, Edland SD, Scherzer CR, Dunckley T, Desplats P. DNA methylation changes associated with Parkinson's disease progression: outcomes from the first longitudinal genome-wide methylation analysis in blood. *Epigenetics.* 2019, 14(4):365-82.
114. Cissé M, Duplan E, Checler F. The transcription factor XBP1 in memory and cognition: Implications in Alzheimer disease. *Mol Med.* 2017, 22:905-17.
115. Duran-Aniotz C, Cornejo VH, Espinoza S, Ardiles AO, Medinas DB, Salazar C, Foley A, Gajardo I, Thielen P, Iwawaki T, Scheper W, Soto C, Palacios AG, Hoozemans JJM, Hetz C. IRE1 signaling exacerbates Alzheimer's disease pathogenesis. *Acta Neuropathol.* 2017, 134(3):489-506.
116. Burchell VS, Nelson DE, Sanchez-Martinez A, Delgado-Camprubi M, Ivatt RM, Pogson JH, Randle SJ, Wray S, Lewis PA, Houlden H, Abramov AY, Hardy J, Wood NW, Whitworth AJ, Laman H, Plun-Favreau H. The Parkinson's disease-linked proteins Fbxo7 and Parkin interact to mediate mitophagy. *Nat Neurosci.* 2013, 16(9):1257-65.
117. Bingol B, Sheng M. Mechanisms of mitophagy: PINK1, Parkin, USP30 and beyond. *Free Radic Biol Med.* 2016, 100:210-22.
118. Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, Yokochi M, Mizuno Y, Shimizu N. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature.* 1998, 392(6676):605-8.

119. Benson DL, Huntley GW. Are we listening to everything the PARK genes are telling us? *J Comp Neurol*. 2019, 527(9):1527-40.
120. Masliah, E., Dumaop, W., Galasko, D., and Desplats, P. Distinctive patterns of DNA methylation associated with Parkinson disease: identification of concordant epigenetic changes in brain and peripheral blood leukocytes. *Epigenetics*. 2013, 8(10):1030–8.
121. International Parkinson's Disease Genomics Consortium (IPDGC) and Wellcome Trust Case Control Consortium 2 (WTCCC2). A two-stage metaanalysis identifies several new loci for Parkinson's disease. *PLoS Genet*. 2011, 7:e1002142.
122. Wang Y, Wang X, Li R, Yang ZF, Wang YZ, Gong XL, Wang XM. A DNA methyltransferase inhibitor, 5-aza-2'- deoxycytidine, exacerbates neurotoxicity and upregulates Parkinson's disease-related genes in dopaminergic neurons. *CNS Neurosci. Ther*. 2013, 19(3):183–90
123. International Parkinson Disease Genomics Consortium, Nalls MA, Plagnol V, Hernandez DG, Sharma M, Sheerin UM, Saad M, Simón-Sánchez J, Schulte C, Lesage S, Sveinbjörnsdóttir S, Stefánsson K, Martinez M, Hardy J, Heutink P, Brice A, Gasser T, Singleton AB, Wood NW. Imputation of sequence variants for identification of genetic risks for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet*. 2011, 377(9766):641-9.
124. Johnson ME, Stecher B, Labrie V, Brundin L, Brundin P. Triggers, Facilitators, and Aggravators: Redefining Parkinson's Disease Pathogenesis. *Trends Neurosci*. 2019, 42(1):4-13.
125. Macchi B, Di Paola R, Marino-Merlo F, Felice MR, Cuzzocrea S, Mastino A. Inflammatory and cell death pathways in brain and peripheral blood in Parkinson's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2015, 14(3):313-24.
126. Hamza TH, Zabetian CP, Tenesa A, Laederach A, Montimurro J, Yearout D, Kay DM, Doheny KF, Paschall J, Pugh E, Kusel VI, Collura R, Roberts J, Griffith A, Samii A, Scott WK, Nutt J, Factor SA, Payami H. Common genetic variation in the HLA region is associated with late-onset sporadic Parkinson's disease. *Nat Genet*. 2010, 42(9):781-5.
127. Pierce S, Coetzee GA. Parkinson's disease-associated genetic variation is linked to quantitative expression of inflammatory genes. *PLoS One*. 2017, 12(4):e0175882.

128. Peter I, Dubinsky M, Bressman S, Park A, Lu C, Chen N, Wang A. Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy and Incidence of Parkinson Disease Among Patients With Inflammatory Bowel Disease. *JAMA Neurol.* 2018, 75(8):939-46.
129. Williams-Gray CH, Wijeyekoon R, Yarnall AJ, Lawson RA, Breen DP, Evans JR, Cummins GA, Duncan GW, Khoo TK, Burn DJ, Barker RA; ICICLE-PD study group. Serum immune markers and disease progression in an incident Parkinson's disease cohort (ICICLE-PD). *Mov Disord.* 2016, 31(7):995-1003.
130. Yasue H, Hirai N, Mizuno Y, Harada E, Itoh T, Yoshimura M, Kugiyama K, Ogawa H. Low-grade inflammation, thrombogenicity, and atherogenic lipid profile in cigarette smokers. *Circ J.* 2006, 70(1):8-13.
131. Shen C, Guo Y, Luo W, Lin C, Ding M. Serum urate and the risk of Parkinson's disease: results from a meta-analysis. *Can J Neurol Sci.* 2013, 40(1):73-9.
132. Fardell C, Schiöler L, Nissbrandt H, Torén K, Åberg M. The erythrocyte sedimentation rate in male adolescents and subsequent risk of Parkinson's disease: an observational study. *J Neurol.* 2021, 268(4):1508-16.
133. Wei X, Zhang L, Zeng Y. DNA methylation in Alzheimer's disease: In brain and peripheral blood. *Mech Ageing Dev.* 2020, 191:111319.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş







EK-2. Etik Kurul Onayı





EK-3. Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği

(MDS-UPDRS an update: 2008)

Hastanın Adı Soyadı: _____ Tarih: ____/____/____

Bölüm 1: Non Motor Sorunlar

Bölüm 1A: Karmaşık Davranışlar (değerlendiren tarafından doldurulacak)

Bilginin esas olarak alındığı kişi: Hasta Hastaya bakım veren Her ikisi de

Hastaya okuyunuz: Size yaşamış olabileceğiniz veya hiç yaşamadığınız davranışlarla ilgili 6 soru soracağım. Bazı sorular genel problemlerle bazı sorular nadir karşılaşılan problemlerle ilgili. Aşağıdaki alanlarla ilgili bir sorunuz varsa GEÇTİĞİMİZ HAFTA İÇİNDE ÇOĞU ZAMAN ne hissettiğinizi belirten seçeneği işaretleyin. Eğer öyle bir sorunuz olmamışsa HAYIR demeniz yeterli. İnce detaylara inmeye çalışıyorum; bu yüzden sizinle hiç ilgisi olmayan sorular sorabilirim.

1.1 Kognitif Tutulum

Skor

Değerlendiren için yönerge: Kognitif bozukluğun; kognitif yavaşlama, bozulmuş muhakeme, hafıza kaybı, dikkat ve oryantasyonda eksikliği de içeren bütün bozulmuş seviyelerini değerlendirin.

Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge: Geçtiğimiz hafta içinde bir şeyi hatırlamakta, konuşmaları takip etmekte, dikkatinizi toplamakta, net düşünmede, ev veya şehir içinde yolunuzu bulmakta zorlandığınız oldu mu? (Eğer evetse, değerlendirilen duruma açıklık getirecek ek sorular sorabilir.)

0: Kognitif tutulum yok.

1: Silik. Hasta veya hasta bakıcısı tarafından bozukluk fark edilmiş; ancak hastanın normal işlerini ve sosyal etkileşimini sürdürme yeteneğini somut bir şekilde etkilemiyor.

2: Hafif. Klinik olarak belirgin kognitif tutulum; ancak hastanın normal işlerini ve sosyal etkileşimini sürdürme yeteneğini minimal etkiliyor.

3: Orta. Kognitif tutulum hastanın normal işlerini ve sosyal etkileşimini sürdürme yeteneğini etkiliyor ancak engellemiyor.

4: Şiddetli. Kognitif disfonksiyon hastanın normal işlerini ve sosyal etkileşimini sürdürme yeteneğini engelliyor.

1.2 Varsanılar Ve Psikoz

Skor

Değerlendiren için yönerge: Hem illüzyonları (gerçeğin yanlış yorumlanması) hem de varsanıları (spontan yanlış algı) göz önüne alın. Bütün ana duyu alanlarını değerlendirin (görme, duyma, dokunma, koklama ve tatma). Biçimlenmemiş (örneğin bir varlık hissi veya geçici yanlış izlenim) ve biçimlenmiş (tamamen gelişmiş ve ayrıntılı) algıların varlığını değerlendirin. Hastanın varsanılara dair içgörüsünü değerlendirin, sanrıları ve psikotik düşünceyi tespit edin.

Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge: Geçtiğimiz hafta içinde aslında olmayan bir şey gördüğünüz, duyduğunuz, hissettiğiniz veya kokusu aldığımız oldu mu? (Eğer evetse, değerlendirilen kişi cevabı detaylandırmalı.)

0: Normal. Varsanı veya psikotik davranış yok.

1: Silik. İllüzyonlar veya biçimlenmemiş varsanılar; ancak hasta iç görüsünü kaybetmeden bunları fark edebiliyor.

2: Hafif. Çevresel uyarandan bağımsız biçimlenmiş varsanılar. İç görü kaybı yok.

3: Orta. İçgörü kaybıyla birlikte biçimlenmiş varsanılar.

4: Şiddetli. Hastanın sanrıları veya paranoyası var.

www.ftronline.com

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-2

1.3 Depresyon	Skor
<p><u>Değerlendiren için yönerge:</u> Duygudurum düşüklüğü, üzüntü, umutsuzluk, boşluk hissi veya haz kaybını değerlendirin. Geçtiğimiz hafta içinde olup olmadığını ve ne kadar sürdüğünü belirleyin, hastanın günlük rutinlerini devam ettirme ve sosyal etkileşimde bulunma yeteneğinin ne kadar etkilendiğini ölçün.</p> <p><u>Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge:</u> Geçtiğimiz hafta içinde mutsuz, üzgün, umutsuz ve hiçbir şeyden keyif alamadığınızı hissettiniz mi? Eğer evetse, bu his tek seferde bir günden uzun sürdü mü? Sizin normal işlerinizi yapmanızı veya başka insanlarla vakit geçirmenizi zorlaştırdı mı? (Eğer evetse, değerlendiren kişi cevabı detaylandırmalı.)</p>	
0: Normal. Depresyon yok.	-----
1: Silik. Tek seferde bir günden uzun sürmeyen depresif duygudurum dönemleri var. Normal işlerini veya sosyal etkileşimi sürdürmeyi zorlaştırmıyor.	
2: Hafif. Günlerce süren depresif duygudurum; ancak normal iş veya sosyal etkileşimi sürdürmeyi zorlaştırmıyor.	
3: Orta. Normal işleri veya sosyal etkileşimi sürdürmeyi zorlaştıran ancak engellemeyen depresif duygudurum.	
4: Ağır. Normal işleri ve sosyal etkileşimi sürdürmeyi engelleyen depresif duygudurum.	
1.4 Anksiyete	Skor
<p><u>Değerlendiren için yönerge:</u> Sinirlilik, gerginlik, endişe veya anksiyete gibi duyguları değerlendirin (panik atakları dahil). Geçtiğimiz hafta içinde olup olmadığını ve ne kadar sürdüğünü belirleyin, hastanın günlük rutinlerini devam ettirme ve sosyal etkileşimde bulunma yeteneğinin ne kadar etkilendiğini ölçün.</p> <p><u>Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge:</u> Geçtiğimiz hafta içinde sinirli, gergin veya endişeli hissettiniz mi? Eğer evetse, bu his tek seferde bir günden uzun sürdü mü? Sizin normal işlerinizi yapmanızı veya başka insanlarla vakit geçirmenizi zorlaştırdı mı? (Eğer evetse, değerlendiren kişi cevabı detaylandırmalı.)</p>	
0: Normal. Anksiyete yok.	-----
1: Silik. Anksiyete var; ancak tek seferde bir günden uzun sürmüyor. Normal iş veya sosyal etkileşimi sürdürmeyi zorlaştırmıyor.	
2: Hafif. Anksiyete tek seferde bir günden uzun sürüyor; ancak normal iş veya sosyal etkileşimi sürdürmeyi zorlaştırmıyor.	
3: Orta. Normal işleri veya sosyal etkileşimi sürdürmeyi zorlaştıran ancak engellemeyen anksiyete.	
4: Şiddetli. Normal işleri ve sosyal etkileşimi sürdürmeyi engelleyen anksiyete.	
1.5 Apati	Skor
<p><u>Değerlendiren için yönerge:</u> Spontan aktivite, kendine güven, motivasyon ve girişkenlik seviyelerini değerlendirin ve performans düşüklüğünün normal aktivitelere ve sosyal etkileşime etkisini ölçün. Burada değerlendiren kişi apati ile depresyonla daha iyi açıklanabilen benzer semptomları, birbirinden ayırmaya çalışmalı.</p> <p><u>Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge:</u> Geçtiğimiz hafta içinde günlük işleri yapmaya veya başka insanlarla vakit geçirmeye isteksiz olduğunuzu hissettiniz mi? (Eğer evetse, değerlendiren kişi cevabı detaylandırmalı.)</p>	
0: Normal. Apati yok.	-----
1: Silik. Hasta veya hasta bakıcısı tarafından apati fark edilmiş; ancak hastanın normal işlerini ve sosyal etkileşimini etkilemiyor.	
2: Hafif. Apati bazı işler ve sosyal etkileşimleri etkiliyor.	
3: Orta. Apati çoğu işi ve sosyal etkileşimi etkiliyor.	
4: Şiddetli. Pasif ve içine kapanık. Girişkenlik tamamen kaybedilmiş	

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-3

1.6 Dopamin Disregülasyon Sendromu

Skor

Değerlendiren için yönerge: Atipik veya aşırı kumarbazlık (örneğin kumarhaneler ve piyango biletlere), atipik veya aşırı cinsel istek veya merak (örneğin pornografiye, masturbasyona karşı alışılmamış merak, partnerden cinsel talepler), diğer tekrarlayıcı aktiviteler (örneğin hobiler, nesnelere parçalarına ayırma, sınıflandırma veya düzenleme) veya fiziksel olmayan nedenler (örneğin bağımlılık) için reçetesiz ilaçların fazla kullanımını kapsayan çeşitli aktivitelere yönelimi değerlendirin. Bu anormal aktivite/davranışların kişinin kendi hayatı, ailesi ve sosyal ilişkileri (borç alma gereksinimi veya kredi kartlarının iptali gibi finansal sıkıntılar, aile içi büyük kavgalar, işten kaybedilen zaman veya aktivite yüzünden kaçınılan öğün veya azalan uyku dahil) üzerindeki etkilerini ölçün.

Hasta ve hasta yakını için yönerge: Geçtiğimiz hafta içinde normalde hissetmediğiniz, kontrol edilmesi zor, güçlü istekleriniz oldu mu? Bir şeyi yapmak zorunda olduğunuzu veya bir şey hakkında düşünüp bunu durdurmanın zor olduğunu düşünüyor musunuz? (Kumar oynamak, temizlik yapmak, bilgisayar kullanmak, ekstra ilaç almak, yemek veya seksle ilgili takıntı gibi tamamen hastaya bağlı şeylerden örnek verin.)

0: Normal. Hiçbir problem yok.

1: Silik. Bu problemler var; ancak hasta veya hasta bakıcısı/ailesi açısından herhangi bir soruna yol açmıyor.

2: Hafif. Bu problemler var ve hastanın kişisel hayatı ve aile hayatında bir takım zorluklara yol açıyor.

3: Orta. Bu problemler var ve hastanın kişisel hayatı ve aile hayatında pek çok zorluğa yol açıyor.

4: Şiddetli. Bu problemler var ve hastanın normal işleri veya sosyal etkileşimlerini sürdürmesini veya hastanın kişisel hayatı ve aile hayatında önceki standartlarını yakalamasını engelliyor.

Hasta Anketi

Yönerge:

Bu anket günlük hayatınızda yaşadıklarınıza dair sorulardan oluşmaktadır.

Anket 20 soru içermektedir. Titiz davranmaya çalışıyoruz, bazı sorulardaki problemler sizde hiç bir zaman olmayacaktır. Eğer soruda belirtilen konuda herhangi bir sorunuz yoksa "hayır" cevabı için 0'i işaretlemeniz yeterlidir.

Lütfen her soruyu dikkatlice okuyun ve size en uygun cevabı işaretlemeyi unutmayın.

Bugün de dahil olmak üzere geçtiğimiz haftadaki ortalama olarak yapabildiklerinizde ilgilileniyorsunuz (en iyi ya da en kötü halinizi düşünmeyin). Her soru için yalnızca bir cevap verilmesi gerekmektedir, bu yüzden günün büyük kısmında yapabildiklerinizi belirten cevabı işaretleyin.

Parkinson hastalığı dışında başka hastalıklarınız da olabilir. Parkinson hastalığınızı diğer hastalıklarınızdan ayrı olarak değerlendirerek sorulara cevaplamaya çalışmanıza gerek yok. Sadece size en yakın cevabı işaretlemeniz yeterlidir. Örneğin yürümenizi Parkinson'a değil de diz ağrısına bağlı olarak kötüye, yine de "yürümem kötü" seçeneğini işaretleyin.

Cevap olarak sadece 0,1,2,3,4'ü kullanın. Cevaplanmaması soru bırakmayın.

Doktorunuz veya hemşireniz soruları sizinle birlikte gözetebilir; ancak bu anket sadece hastalar ve eğer varsa hasta yakınları içindir.

Bu anketi kim dolduruyor? (En uygun cevabı işaretleyin) Hasta Hastaya bakım veren Her ikisi de

1.7 Uyku Sorunları

Skor

Geçtiğimiz hafta içinde uykuya dalmakta veya uykuyu sürdürmekte güçlük yaşadınız mı? Sabah uyandığınızda kendinizi ne kadar dinlenmiş olarak hissettiğinizi göz önünde bulundurun.

0: Normal: Herhangi bir sorun yaşamadım.

1: Silik: Uyku sorunum var; ancak bu sorun uykumu almama engel olmuyor.

2: Hafif: Uyku sorunlarım genelde bütün gece deliksiz uyumama engel oluyor.

3: Orta: Uyku sorunlarım uykumu almama çok zorlaştırıyor; ancak yine de gecenin yarısından çoğunda uyuyorum.

4: Şiddetli: Gecenin büyük bölümünde uyuyamıyorum.

www.ftronline.com

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-4

1.8 Gündüz Uyuklama

Skor

Geçtiğimiz hafta içinde, gün içinde uyanık kalmakta zorluk çektiniz mi?

0: Normal: Gündüz uyuklamam olmuyor.

1: Silik: Gündüz uyuklamam oluyor; ancak buna karşı koyuyorum ve uyanık kalıyorum.

2: Hafif: Bazen tek başımayken ve dinlenirken uyuyakalıyorum; mesela televizyon izlerken ve okurken.

3: Orta: Bazen uygun olmayan zamanlarda uyuyakalıyorum; mesela yemek yerken veya başka insanlarla konuşurken.

4: Şiddetli: Uygun olmayan zamanlarda çok sık uyuyakalıyorum; mesela yemek yerken veya başka insanlarla konuşurken.

1.9 Ağrı Ve Diğer Duyusal Sorunlar

Skor

Geçtiğimiz hafta içinde vücudunuzda sizi rahatsız eden ağrı, karıncalanma veya kramp hissettiniz mi?

0: Normal: Bir rahatsızlık hissetmedim.

1: Silik: Bazen bu şikayetlerim oluyor. Ancak işimi yapabiliyorum ve herhangi bir zorluk yaşamadan insanlarla vakit geçirebiliyorum.

2: Hafif: Bu rahatsızlıklar bir şeyler yaparken ve insanlarla birlikteyken bazı sorunlar yaratabiliyor.

3: Orta: Bu rahatsızlıklar pek çok soruna yol açabiliyor; ancak işimi yapmama ve insanlarla vakit geçirmeme engel olmuyor.

4: Şiddetli: Bu rahatsızlıklar işimi yapmama ve insanlarla vakit geçirmeme engel oluyor.

1.10 Öriner Sorunlar

Skor

Geçtiğimiz hafta ani idrara çıkma hissi, çok sık idrara çıkma veya idrar kaçırma gibi bir idrar sorunu yaşadınız mı?

0: Normal: İdrar sıkıntım yok.

1: Silik: Sık veya ani idrara çıkma hissim oluyor. Ancak bu sorunlar günlük işlerime engel olmuyor.

2: Hafif: İdrar problemlerim günlük işlerim açısından sorun teşkil ediyor; ancak idrar kaçırmam olmuyor.

3: Orta: İdrar kaçırma da içeren idrar problemlerim günlük işlerime büyük oranda engel oluyor.

4: Şiddetli: İdrar kontrolümü sağlayamıyorum ve alt bezi kullanıyorum veya idrar sondam var.

1.11 Konstipasyon

Skor

Geçtiğimiz hafta içinde kabızlık şikayetiniz oldu mu?

0: Normal: Kabızlık olmadı.

1: Silik: Kabızlık yaşadım. Tuvaletimi yaparken zorlandım. Ancak bu sorun günlük işlerime engel olmuyor veya rahatsızlık hissi yaratmıyor.

2: Hafif: Kabızlığım, işlerimi yaparken bazı zorluklar oluşturuyor ve rahat hissetmemi biraz engelliyor.

3: Orta: Kabızlığım, işlerimi yaparken büyük oranda zorluk oluşturuyor ve rahat hissetmemi büyük oranda engelliyor. Ancak işlerimi yapmama engel olmuyor.

4: Şiddetli: Genelde bağırsaklarımı boşaltmak için başka birinin fiziksel yardımına ihtiyaç duyuyorum.

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-5

1.12 Ayakta Dururken İç Geçmesi

Skor

Geçtiğimiz hafta içinde otururken veya yatarken ayağa kalktığınızda baş dönmesi veya iç geçmesi hissettiniz mi?

0: Normal: Baş dönmesi veya iç geçme hissi olmadı.

1: Silik: Baş dönmesi veya iç geçme hissi oluyor, ancak bu işlerimi yapmama engel olmuyor.

2: Hafif: Baş dönmesi veya iç geçme hissi bir yerele tutunmama neden oluyor, ancak tekrar oturmaya veya yatmaya ihtiyaç duymuyorum.

3: Orta: Baş dönmesi veya iç geçme hissi, bayılma veya düşmeyi önlemek için oturmam veya yatmam gerekiyor.

4: Şiddetli: Baş dönmesi veya iç geçme hissi bayılmama veya düşmeme neden oluyor.

1.13 Halsizlik

Skor

Geçtiğimiz hafta içinde kendinizi genel olarak halsiz hissettiniz mi? Bu halsizlik hissi uykusuzluk veya üzüntüye bağlı olmamalıdır.

0: Normal: Halsiz hissetmiyorum.

1: Silik: Halsizlik oluyor, ancak işlerimi yapmama veya insanlarla vakit geçirmeme engel olmuyor.

2: Hafif: Halsizliğim işlerimi yaparken veya insanlarla vakit geçirirken bazen zorluk yaratıyor.

3: Orta: Halsizliğim işlerimi yaparken ve insanlarla vakit geçirirken büyük oranda zorlanmama sebep oluyor. Ancak herhangi bir işime engel olmuyor.

4: Şiddetli: Halsizliğim işlerimi yapmama veya insanlarla vakit geçirmeme engel oluyor.

Bölüm 2: Motor Sorunlar

2.1 Konuşma

Skor

Geçtiğimiz hafta içinde konuşmanızla ilgili bir sıkıntınız oldu mu?

0: Normal: Hiçbir sorunum olmadı.

1: Silik: Konuşmam yavaş, bozuk veya kelimeleri yuvarlama şeklinde, ancak diğerlerinin anlayabilmesi için dediklerimi tekrar etmeme gerek olmuyor.

2: Hafif: Her gün olmasa da bazen insanlar dediklerimi tekrarlamamı istiyor.

3: Orta: Söylediklerimin çoğu anlaşılır olsa da her gün insanlar dediklerimi tekrarlamamı istiyor.

4: Şiddetli: Söylediklerimin çoğu anlaşılmıyor.

2.2 Ağızdan Tükürük Sızması

Skor

Geçtiğimiz hafta içinde uyurken veya uyanırken genel olarak çok fazla tükürüğünüz oldu mu?

0: Normal: Öyle bir sorunum olmadı.

1: Silik: Çok fazla tükürüğüm oluyor, ancak salya akması gibi bir sorunum yok.

2: Hafif: Uyurken biraz salyam akıyor, ancak uyanırken öyle bir sorunum yok.

3: Orta: Uyanırken de salyam biraz akıyor, ancak bunun için peçeteye ihtiyacım olmuyor.

4: Şiddetli: 0 kadar çok salyam akıyor ki giysilerim kirlenmesin diye düzenli olarak peçete kullanmam gerekiyor.

www.ftroonline.com

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-6

2.3 Çiğneme Ve Yutma	Skor
Geçtiğimiz hafta içinde hap yutarken veya yemek yerken genel olarak bir probleminiz oldu mu? Boğazınıza kaçmasını önlemek için haplarınızın ezilmesi; yemeklerinizin yumuşak, doğranmış veya öğütülmüş olması gerekiyor mu?	
0: Normal: Öyle bir sorunum olmadı.	
1: Silik: Yavaş çiğnediğim ve yutma güçlüğümün olduğunun farkındayım; ancak yemekler boğazıma kaçmıyor ve yemeklerimin özel olarak hazırlanması gerekmiyor.	-----
2: Hafif: Çiğneme ve yutma güçlüğümün dolayı hapların ezilmesi ve yemeklerimin özel olarak hazırlanması gerekiyor; ancak geçtiğimiz hafta içinde yediklerim hiç boğazıma kaçmadı.	
3: Orta: Geçtiğimiz hafta içinde en az bir kere yediklerim boğazıma kaçtı.	
4: Şiddetli: Çiğneme ve yutma sorunlarımdan dolayı beslenme tüpüne ihtiyaç duyuyorum.	
2.4 Yeme	Skor
Geçtiğimiz hafta içinde yemek esnasında veya yemeye yardımcı araçları kullanırken; mesela elinizle yemek yerken veya çatal- bıçak- kaşık kullanırken sorun yaşadınız mı?	
0: Normal: Hiç sorun yaşamadım.	
1: Silik: Yavaş yiyorum; ancak kendi kendime yardımcı yemek yiyebiliyorum ve yerken yemeğimi döküyorum.	-----
2: Hafif: Yavaş yiyorum ve bazen yerken yemeğimi döküyorum. Et kesmek gibi işlerde yardıma ihtiyaç duyabiliyorum.	
3: Orta: Yemek yerken pek çok kez yardıma ihtiyaç duyuyorum; ancak bazı şeyleri tek başıma da yapabiliyorum.	
4: Şiddetli: Yemek yerken çoğunlukla veya her zaman yardıma ihtiyaç duyuyorum.	
2.5 Giyinme	Skor
Geçtiğimiz hafta içinde genel olarak giyinirken sorun yaşadınız mı? Mesela düğme iliklerken, fermuar çekerken, kıyafetlerinizi giyip çıkarırken, takı takıp çıkarırken yavaş mıydınız veya yardıma ihtiyaç duydunuz mu?	
0: Normal: Hiç sorun yaşamadım.	
1: Silik: Yavaş giyiniyorum; ama yardıma ihtiyacım olmuyor.	-----
2: Hafif: Yavaş giyiniyorum ve birkaç işte yardıma ihtiyaç duyuyorum; bileklik takma, düğme ilikleme gibi.	
3: Orta: Giyinirken pek çok kez yardıma ihtiyaç duyuyorum.	
4: Şiddetli: Giyinirken çoğunlukla veya her zaman yardıma ihtiyaç duyuyorum.	
2.6 Temizlik	Skor
Geçtiğimiz hafta içinde banyo, traş, diş fırçalama, saç tarama veya diğer kişisel bakım işlerinde yavaş mıydınız veya yardıma ihtiyaç duydunuz mu?	
0: Normal: Hiç sorun yaşamadım.	
1: Silik: Yavaşım; ama yardıma ihtiyaç duymuyorum.	-----
2: Hafif: Bazı kişisel bakım işlerinde başkasının yardımına ihtiyaç duyuyorum.	
3: Orta: Kişisel bakım işlerinde pek çok kez yardıma ihtiyaç duyuyorum.	
4: Şiddetli: Kişisel bakım işlerinde çoğunlukla veya her zaman yardıma ihtiyaç duyuyorum.	

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-7

2.7 Yazma		Skor
Geçtiğimiz hafta içinde insanlar el yazınızı okumakta zorlandı mı?		-----
0: Normal: Hiç sorun yaşamadım.		
1: Silik: El yazım düzgün değil, yavaş veya sarsak; ancak bütün kelimeler okunaklı.		
2: Hafif: Bazı kelimeler okunaklı değil ve zor okunuyor.		
3: Orta: Pek çok kelime okunaklı değil ve zor okunuyor.		
4: Şiddetli: Kelimelerin çoğu veya hiçbiri okunmuyor.		
2.8 Hobiler Ve Diğer Etkinlikler		Skor
Geçtiğimiz hafta içinde hobilerinizle (balığa çıkmak, örgü örmek, televizyonda dizi takip etmek gibi) veya hoşunuza giden başka işlerle uğraşırken sorun yaşadınız mı?		-----
0: Normal: Hiç sorun yaşamadım.		
1: Silik: Biraz yavaşım; ancak bu işleri kolayca yapıyorum.		
2: Hafif: Bu işleri yaparken bazen zorlanıyorum.		
3: Orta: Bu işleri yaparken çoğu zaman zorlanıyorum; ama yine de çoğu işleri yapıyorum.		
4: Şiddetli: Bu işlerin çoğunu veya hiçbirini yapamıyorum.		
2.9 Yatakta Dönme		Skor
Geçtiğimiz hafta içinde yatakta dönerken sorun yaşadınız mı?		-----
0: Normal: Hiç sorun yaşamadım.		
1: Silik: Dönerken biraz zorlanıyorum, ancak yardıma ihtiyaç duymuyorum.		
2: Hafif: Çok zor dönüyorum ve bazen yardıma ihtiyaç duyuyorum.		
3: Orta: Dönmek için çoğunlukla yardıma ihtiyacım oluyor.		
4: Şiddetli: Başkasının yardımı olmadan yatakta dönemiyorum.		
2.10 Titreme		Skor
Geçtiğimiz hafta içinde genel olarak titreme oldu mu?		-----
0: Normal: Hiç olmadı.		
1: Silik: Titremem oluyor; ancak hiçbir işimi zorlaştırmıyor.		
2: Hafif: Titremem sadece birkaç işimi zorlaştıyor.		
3: Orta: Titremem pek çok günlük işimi zorlaştıyor.		
4: Şiddetli: Titremem çoğu veya bütün işlerimi zorlaştıyor.		
2.11 Yataktan Kalkma, Arabadan İnme, Alçak Bir Sandalyeden Kalkma		Skor
Geçtiğimiz hafta içinde yataktan, araba koltuğundan veya alçak bir sandalyeden kalkarken sorun yaşadınız mı?		-----
0: Normal: Hiç sorun yaşamadım.		
1: Silik: Yavaşım ve beceriksizliğim var; ancak genelde ilk denememde kalkabiliyorum.		
2: Hafif: Birkaç kez denemem gerekiyor veya ara sıra yardıma ihtiyaç duyuyorum.		
3: Orta: Kalkarken bazen yardıma ihtiyaç duyuyorum; ancak yine de çoğunlukla tek başıma kalkabiliyorum.		
4: Şiddetli: Çoğunlukla veya her zaman yardıma ihtiyaç duyuyorum.		

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-8

2.12 Yürüme Ve Denge	Skor
Geçtiğimiz hafta içinde dengenizi korumakta veya yürümekte genel olarak zorlandığınız oldu mu?	
0: Normal: Hiç sorun yaşamadım.	
1: Silik: Biraz yavaşım veya bacağımı sürüyebiliyorum. Hiç yürüme ayağı kullanmıyorum.	
2: Hafif: Ara sıra yürüme ayağı kullanıyorum; ancak başkasının yardımına ihtiyaç duymuyorum.	-----
3: Orta: Düşmeden daha güvenli yürümek için genelde walker veya baston gibi yürüme aygıtlarından birini kullanıyorum; ancak genelde başkasının yardımına ihtiyaç duymuyorum.	
4: Şiddetli: Düşmeden güvenli yürümek için genelde başka insanlardan yardım alıyorum.	

2.13 Donma	Skor
Geçtiğimiz hafta içinde sıradan bir gününüzde yürürken sanki ayaklarınız yere yapışmış gibi aniden durduğunuz veya donup kaldığınız oldu mu?	
0: Normal: Böyle bir sorun yaşamadım.	
1: Silik: Kısa süreliğine donuyorum; ancak kolayca tekrardan yürümeye başlayabiliyorum. Donma yüzünden başkasının veya bir yürüme ayağının (baston, walker) yardımına ihtiyaç duymuyorum.	
2: Hafif: Donuyorum ve tekrar yürümeye başlarken zorlanıyorum; ancak donma yüzünden başkasının veya bir yürüme ayağının (baston, walker) yardımına ihtiyacım olmuyor.	-----
3: Orta: Dondağında tekrar yürümeye başlarken çok zorlanıyorum ve donma yüzünden bazen başkasının veya bir yürüme ayağının (baston, walker) yardımına ihtiyaç duyuyorum.	
4: Şiddetli: Donma yüzünden çoğunlukla veya her zaman başkasının veya bir yürüme ayağının yardımına ihtiyaç duyuyorum.	

Böylece anket tamamlandı. Sizde olmayan ve hatta hiç gelişmeyecek olan sorunlardan bahsetmiş olabilirim. Bütün hastalarda bütün bu problemler görülmez; ancak görülme ihtimali olduğu için her soruyu hastaların hepsine yönelmek önemlidir.

Bu anket için zaman ayrdığınız ve dikkatinizi verdiğiniz için teşekkür ederim.

Bölüm 3: Motor Muayene

Genel bilgi: Ölçeğin bu bölümü Parkinson hastalığının motor bulgularını değerlendirir. Bölüm 3'ü uygularken değerlendirilen kişi aşağıdaki yönergeyi kullanmalıdır:

Sayfanın en üst bölümünde hastanın Parkinson hastalığı semptomatik tedavisi için ilaç kullanıp kullanmadığını işaretleyin, eğer levodopa kullanıyorsa, son dozun üzerinden ne kadar zaman geçtiğini yazın.

Ayrıca eğer hasta Parkinson hastalığı semptomatik tedavisi için ilaç kullanıyorsa şu tanımlamaları kullanarak hastanın klinik durumunu belirtin:

- ✓ **ON** hastanın tedavi aldığı ve tedaviye iyi cevap verdiği tipik fonksiyonel durum.
- ✓ **OFF** hastanın tedavi almasına rağmen tedaviye cevabının kötü olduğu tipik fonksiyonel durum.

Muayene eden kişi gördüğü şeyi değerlendirmeli. Kuşkusuz; imme, paraliz, artrit, kontraktür, kalça veya diz replasmanı gibi ortopedik problemler ve skolyoz motor muayenenin aynı gün kısımlarını etkileyebilir. Muayenenin tamamen imkansız olduğu durumlarda (amputasyon, pleji, ekstremitenin alçada olması) "değerlendirilemedi" D ibaresini kullanın. Bunun dışında hastanın komorbiditesiyle birlikte söylenen hareketleri yaparkenki performansını değerlendirin.

Bütün maddelerin değeri tam sayı olmalıdır (yarım puan, eksik puan olmamalı). Her maddenin değerlendirilmesi için özel yönergeler verilmiştir. Bunlara her zaman uyulmalıdır. Değerlendiren kişi hastaya yapması gereken hareketi açıklarken gösterir ve yaptıktan hemen sonra fonksiyonu değerlendirir. Global Spontan Hareket ve İstirahat Tremoru maddeleri (3.14 ve 3.17)'ne göre, hastanın skoruna uygun klinik bilgi bütün muayenenin sonunda elde edileceği için bu maddeler özellikle ölçeğin en sonuna yerleştirilmiştir. Değerlendirmenin sonunda muayene esnasında dikkatsiz (buna veya diğer) ekip olmasaklı ve diğer ekipya bu hareketlerin motor muayeneyi etkileyeceğini bilmesini belirtin.

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-9

3a. Hasta Parkinson hastalığının semptomatik tedavisi için ilaç kullanıyor mu?	<input type="checkbox"/> Hayır	<input type="checkbox"/> Evet
3b. Eğer hasta Parkinson hastalığı semptomatik tedavisi için ilaç kullanıyorsa şu tanımlamaları kullanarak hastanın klinik durumunu belirtin: <input type="checkbox"/> ON: On hastanın tedavi aldığı ve iyi bir cevap verdiği tipik fonksiyonel durum. <input type="checkbox"/> OFF: Off hastanın tedavi alınmasına rağmen tedaviye cevabının kötü olduğu tipik fonksiyonel durum.		
3c. Hasta levodopa kullanıyor mu?	<input type="checkbox"/> Hayır	<input type="checkbox"/> Evet ise son dozun üzerinden kaç dakika geçmiştir?

3.1 Konuşma

Skor

Değerlendirilen için yönerge: Hastanın normal konuşmasına ve eğer gerekirse konuşmayı sürdürmesine kulak verin. Önerilen konu başlıklar: Hastanın işiyle, hobileriyle, yaptığı egzersizlerle ilgili sorular sorun veya doktora nasıl geldiğini öğrenin. Sesin şiddetini, vurğu (prosodi-modülasyon) ve anlaşılabilirliğinin kelimeleri ayırma, yuvarlama, pallali (heceleri tekrarlama) ve takilemi (hızlı konuşma, hecelerin birbirine karışması)yi de içerecek şekilde, değerlendirin.

0: Normal: Konuşmada sorun yok.

1: Silik: Modülasyon, diksiyonda kayıp veya ses şiddetinde azalma; ancak bütün kelimeler yine de anlaşılıyor.

2: Hafif: Modülasyon, diksiyonda kayıp veya ses şiddetinde azalma; anlaşılmayan birkaç kelime var ancak genel olarak bütün cümleler anlaşılabilir.

3: Orta: Çoğu olmasa da bazı cümlelerin çok az anlaşılabilirliği anlamakta zorlanılan konuşma.

4: Şiddetli: Konuşmanın çoğu anlaşılmıyor veya anlamsız

3.2 Yüz İfadesi

Skor

Değerlendirilen için yönerge: En az 10 saniye hasta otururken konuşmadan ve konuşma sırasında gözlemleyin. Göz kırpma frekansı, maske yüz veya yüz ifadesinde kayıp, spontan gülümseme ve dudakların ayrılmasını gözlemleyin.

0: Normal: Normal yüz ifadeleri.

1: Silik: Sadece göz kırpma frekansında azalmayla görülen minimal maske yüz.

2: Hafif: Azalmış göz kırpma frekansına ek yüzün alt kısmında maske yüz (spontan gülümseme gibi; ama dudaklar aynı değil, ağız etrafında azalmış hareket).

3: Orta: Ağız dinlenimdayken dudakların bazen aynı durmasıyla görülen maske yüz.

4: Şiddetli: Ağız dinlenimdayken dudakların çoğu zaman aynı durmasıyla görülen maske yüz.

3.3 Rijidite

Skor

Değerlendirilen için yönerge: Rijidite, gevşek halde duran büyük eklemlerin yavaş pasif hareketleri ile muayene eden kişinin ekstremiteleri ve boynu oynatması şeklinde değerlendirilir. Önce, aktivasyon manevrası olmadan test edin. Her ekstremiteyi ve boynu aynı anda muayene edip değerlendirin. Kollar için, el bileği ve dirsek eklemini aynı anda muayene edin. Bacaklar için kalça ve diz eklemini aynı anda muayene edin. Eğer rijidite saptanmadıysa muayene yapılmayan ekstremitelerde parmak hareketleri, yumruk yapma veya topuk vurma gibi aktivasyon manevrası kullanın. Hastaya rijidite için muayeneyi yaparken kendisini mümkün olduğu kadar gevşek bırakmasını söyleyin.

0: Normal: Rijidite yok.

1: Silik: Sadece aktivasyon manevrasıyla rijidite var.

2: Hafif: Aktivasyon manevrası olmadan rijidite var; ancak hareketin tamamı kolayca yapılıyor.

3: Orta: Aktivasyon manevrası olmadan rijidite var, hareketin tamamı eforla yapılıyor.

4: Şiddetli: Aktivasyon manevrası olmadan rijidite var, hareketin tamamı yapılamıyor.

www.ftfonline.com

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-10

3.4 Parmak Hareketleri		Skor
Değerlendirilen için yönerge: İki eli ayrı ayrı muayene edin. Hareketi gösterin; ancak hasta yaparken siz de yapmaya devam etmeyin. Hastaya baş parmağıyla işaret parmağını olabildiğince hızlı ve iki parmağın arasını olabildiğince fazla açarak 10 kere vurması gerektiğini anlatın. Hızı, amplitüdü, duraksamaları, çarpılmaları ve amplitüde azalmayı göz önünde bulundurarak her iki eli ayrı değerlendirin.		Sağ
0: Normal: Herhangi bir sorun yok.		-----
1: Silik: Bunlardan biri; a) hareketin düzenli ritmi bir veya iki duraksama veya kesintiyle bozuluyor b) belli belirsiz yavaşlama c) amplitüd 10. vuruşun sonuna doğru düşüyor.		-----
2: Hafif: Bunlardan biri; a) hareket sırasında 3-5 kesinti b) hafif yavaşlama c) 10 vuruşluk dizinin ortasında amplitüd düşüyor.		Sol
3: Orta: Bunlardan biri; a) hareket sırasında beşten fazla kesinti veya harekete devam ederken en az bir kere donma (daha uzun kesinti) b) orta yavaşlama c) ilk vuruştan sonra amplitüd düşüyor.		-----
4: Şiddetli: Yavaşlama, kesinti ve amplitüdün düşmesi nedeniyle hareketi çok zor yapıyor veya yapamıyor.		-----
3.5 El Hareketleri		Skor
Değerlendirilen için yönerge: İki eli ayrı ayrı muayene edin. Hareketi gösterin; ancak hasta yaparken siz de yapmaya devam etmeyin. Hastaya avuç içi muayene eden kişiye bakacak şekilde dirseğini büküp elini sıkıca yumruk yapmasını anlatın. Hastaya elini 10 kere tam olarak olabildiğince hızlı açtırın. Eğer hasta elini sıkıca yumruk yapmayı veya tamamen açmayı başaramazsa, onu bunu yapması gerektiğini hatırlatın. Hızı, amplitüdü, duraksamaları, çarpılmaları ve amplitüde azalmayı göz önünde bulundurarak her iki eli ayrı değerlendirin.		Sağ
0: Normal: Herhangi bir sorun yok.		-----
1: Silik: Bunlardan biri; a) hareketin düzenli ritmi bir veya iki duraksama veya kesintiyle bozuluyor b) belli belirsiz yavaşlama c) amplitüd hareketin sonuna doğru düşüyor.		-----
2: Hafif: Bunlardan biri; a) hareket sırasında üç beş kesinti b) hafif yavaşlama c) hareketin ortasında amplitüd düşüyor.		Sol
3: Orta: Bunlardan biri; a) hareket sırasında beşten fazla kesinti veya harekete devam ederken en az bir kere donma b) orta yavaşlama c) ilk yumruk yapıp açmadan sonra amplitüd düşüyor.		-----
4: Şiddetli: Yavaşlama, kesinti ve amplitüdün düşmesi nedeniyle hareketi çok zor yapıyor veya yapamıyor.		-----
3.6 Elin Pronasyon Ve Supinasyonu		Skor
Değerlendirilen için yönerge: İki eli ayrı ayrı muayene edin. Hareketi gösterin; ancak hasta yaparken siz de yapmaya devam etmeyin. Hastaya avuç içleri yere bakacak şekilde kollarını vücudunun ön tarafında uzatmasını ve sonra avuç içini arka arkaya 10 kere olabildiğince hızlı ve tam olarak yukarı ve aşağı çevirmesini söyleyin. Hızı, amplitüdü, duraksamaları, çarpılmaları ve amplitüde azalmayı göz önünde bulundurarak her iki eli ayrı değerlendirin.		Sağ
0: Normal: Herhangi bir sorun yok.		-----
1: Silik: Bunlardan biri; a) hareketin düzenli ritmi bir veya iki duraksama veya kesintiyle bozuluyor b) belli belirsiz yavaşlama c) amplitüd hareketin sonuna doğru düşüyor.		-----
2: Hafif: Bunlardan biri; a) hareket sırasında üç beş kesinti b) hafif yavaşlama c) hareketin ortasında amplitüd düşüyor.		Sol
3: Orta: Bunlardan biri; a) hareket sırasında beşten fazla kesinti veya harekete devam ederken en az bir kere donma b) orta yavaşlama c) ilk pronasyon-supinasyon dizisinden sonra amplitüd düşüyor.		-----
4: Şiddetli: Yavaşlama, kesinti ve amplitüdün düşmesi nedeniyle hareketi çok zor yapıyor veya yapamıyor.		-----

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-11

3.7 Ayak Parmağı Vurma

Değerlendirilen için yönerge: Hastayı iki ayağı yerde olacak şekilde kolları olan düz arkalıklı bir sandalyeye oturtun. İki ayağı aynı anda muayene edin. Hareketi gösterin; ancak hasta yaparken siz de yapmaya devam etmeyin. Hastaya topuğunu rahat hissettiği bir pozisyonda yere koymasını ve sonra parmaklarını 10 kere olabildiğince hızlı ve kaldırabildiği kadar yukarı kaldırarak vurmasını söyleyin. Hız, amplitüdü, duraksamaları, saçarmaları ve amplitüdü azalmayı göz önünde bulundurarak her iki ayağı aynı değerlendirin.

0: Normal: Herhangi bir sorun yok.

1: Silik: Bunlardan biri; a) hareketin düzenli ritmi bir veya iki duraksama veya kesintiyle bozuluyor b) belli belirsiz yavaşlama c) amplitüd hareketin sonuna doğru düşüyor.

2: Hafif: Bunlardan biri; a) hareket sırasında üç beş kesinti b) hafif yavaşlama c) hareketin ortasında amplitüd düşüyor.

3: Orta: Bunlardan biri; a) hareket sırasında beşten fazla kesinti veya harekete devam ederken en az bir kere donma b) orta yavaşlama c) ilk vuruştan sonra amplitüd düşüyor.

4: Şiddetli: Yavaşlama, kesinti ve amplitüdün düşmesi nedeniyle hareketi çok zor yapıyor veya yapamıyor.

Sağ
Sol

3.8 Bacak Hareketleri

Değerlendirilen için yönerge: Hastayı kolları olan düz arkalıklı bir sandalyeye oturtun. Hastanın iki ayağının rahat bir şekilde yere değmesi gerekiyor. İki bacağı aynı anda muayene edin. Hareketi gösterin; ancak hasta yaparken siz de yapmaya devam etmeyin. Hastaya ayağını yere rahat bir şekilde koymasını ve sonra ayağını 10 kere olabildiğince hızlı ve yükseğe kaldırıp yere vurmasını söyleyin. Hız, amplitüdü, duraksamaları, saçarmaları ve amplitüdü azalmayı göz önünde bulundurarak her iki bacağı aynı değerlendirin.

0: Normal: Herhangi bir sorun yok.

1: Silik: Bunlardan biri; a) hareketin düzenli ritmi bir veya iki duraksama veya kesintiyle bozuluyor b) belli belirsiz yavaşlama c) amplitüd hareketin sonuna doğru düşüyor.

2: Hafif: Bunlardan biri; a) hareket sırasında üç beş kesinti b) hafif yavaşlama c) hareketin ortasında amplitüd düşüyor.

3: Orta: Bunlardan biri; a) hareket sırasında beşten fazla kesinti veya harekete devam ederken en az bir kere donma b) orta yavaşlama c) ilk vuruştan sonra amplitüd düşüyor.

4: Şiddetli: Yavaşlama, kesinti ve amplitüdün düşmesi nedeniyle hareketi çok zor yapıyor veya yapamıyor.

Skor

Sağ

Sol

3.9 Sandalyeden Kalkma

Değerlendirilen için yönerge: Hastayı iki ayağı yerde olacak şekilde kolları olan düz arkalıklı bir sandalyeye oturtun ve arkasına yaslanmasını söyleyin (eğer hasta çok kısa değilse). Hastadan kollarını göğsünde kavuşturmasını ve sonra ayağı kalkmasını isteyin. Eğer hasta başarılı olmazsa bu hareketi en fazla iki kere deneyin. Eğer hala başarılı olmazsa hastaya kolları göğsü üzerinde kavuşturulmuş şekilde sandalyeden öne kayarak kalkmasına şans tanıyın. Bu şekilde sadece bir denemeye şans tanıyın. Eğer başarılı olmazsa ellerini kullanarak sandalyenin kollarından destek alarak kalkmasına şans tanıyın. Destek alarak kalkmasına en fazla üç kere şans tanıyın. Eğer hala başarılı olmuyorsa hastaya kalkması için yardım edin. Hasta kalktıktan sonra 3.13. madde için hastanın postürünü inceleyin.

0: Normal: Herhangi bir sorun yok. Duraksamadan hızlıca kalkabiliyor.

1: Silik: Normalden yavaş kalkıyor veya bir kereden fazla denemesi gerekebilir veya kalkmak için sandalyede öne kayması gerekebilir. Sandalyenin kollarından destek alınmasına gerek kalmıyor.

2: Hafif: Sandalyenin kollarından destek alarak zorlanmadan kalkıyor.

3: Orta: Destek alınması gerekiyor; ancak geri düşmeye meyilli veya bir kereden fazla destek alarak denemesi gerekebilir; ancak yardım almadan kalkabiliyor.

4: Şiddetli: Yardım almadan kalkamıyor.

Skor

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-12

3.10 Yürüyüş

Skor

Değerlendirilen için yönerge: Yürüyüş değerlendirilmesi en iyi vücudun hem sağ hem de sol tarafının aynı anda incelenebilmesi için hastanın muayene eden kişiye doğru ve ondan uzağa doğru yürütmesi ile yapılır. Hasta en az 10 metre (30 feet) yürümeli ve sonra dönüp muayene eden kişiye doğru yürümelidir. Bu madde pek çok davranışı ölçer: adım amplitüdü, adım hızı, ayağın kaldırıldığı yükseklik, yürürken ve dönerken topuk adımı ve kolların sallama; ancak donma değil. Hasta yürürken "yürürken donma"yı da değerlendirin(bir sonraki madde, 3.11). Madde 3.13 için postürü gözlemleyin.

0: Normal: Herhangi bir sorun yok.

1: Silik: Minimal yürüyüş bozukluğuyla bağımsız yürüyüş.

2: Hafif: Belirgin yürüme bozukluğuyla bağımsız yürüyüş.

3: Orta: Güvenli yürüyebilme için yardımcı alet (baston, walker) gereksinimi duyuyor; ancak başka bir insanın yardımına ihtiyacı yok.

4: Şiddetli: Başka birinin yardımı olmadan yürüyemiyor.

3.11 Yürürken Donma

Skor

Değerlendirilen için yönerge: Yürüyüşü değerlendirirken yürüyüşte donma epizodları olup olmadığını da değerlendirin. Başlarken duraksama ve özellikle dönerken ve hareketin sonuna gelirken harekette tutukluğa bakın. Hastalar sensory trick kullanmamalı, ancak güvenlik nedeniyle (düşme) buna izin verilebilir.

0: Normal: Donma yok.

1: Silik: Başlarken, dönerken veya kapı aralığından geçerken tek bir duraksamayla donuyor; ancak sonrasında donma olmadan rahatça düz zeminde yürümeye devam ediyor.

2: Hafif: Başlarken, dönerken veya kapı aralığından geçerken birden fazla duraksamayla donuyor; ancak sonrasında donma olmadan rahatça düz zeminde yürümeye devam ediyor.

3: Orta: Düz zeminde yürürken bir kez donuyor.

4: Şiddetli: Düz zeminde yürürken pek çok kez donuyor.

3.12 Postural Stabilite

Skor

Değerlendirilen için yönerge: Bu test hasta gözleri açık, ayakları rahat bir şekilde ayrılarak ve birbirine paralel, dik bir şekilde ayakta dururken omuzlarından ani, güçlü bir çökmeyle oluşturulan ani yer değişimine karşı vücudun verdiği cevabı inceler. Geriye adım atmaya gözlemleyin. Hastanın arkasında durup hastaya ne yapacağını anlatın. Düşmeyi engellemek için arkaya doğru bir adım atabileceğini söyleyin. Geriye kaç adım atıldığını görebilmek için muayene eden kişinin en az bir iki metre arkasında sağlam bir duvar olmak. İlk çökme eğitici bir canlandırma ve özellikle daha hafif olup değerlendirmeye alınmaz. İkinci seferde muayene eden kişi hastanın arkaya doğru bir adım atmak zorunda kalmasına sebep olacak kadar yerçekimi merkezini yerini değiştirecek güçte omuzları hızlı ve şiddetli bir şekilde kendine çökme. Muayene eden kişi hastayı tutmaya hazırlıklı olmalı; ancak hastanın dengesini sağlamak için geriye birkaç adım atmasına izin verecek kadar yer bırakacak uzaklıkta durmalı. Hastanın çökmenin korkusuyla vücudunu anormal şekilde öne doğru gevşetmesine izin vermeyin. Geriye atılan adım sayısını veya düşmeyi inceleyin. Dengeyi sağlamak için iki adımı kadar geri adım normal kabul edilir; yani anormal ölçüm üç adımla başlar. Eğer hasta bu testi anlamazsa, muayene eden kişi hastanın anlamamasına veya hazırlıksız yakalanmasına bağlı olmasından ziyade kısıtlılığını yansıtan bir ölçüm olduğunu düşünene kadar testi tekrar edebilir. Madde 3.13 için ayakta durma postürünü inceleyin.

0: Normal: Herhangi bir sorun yok. Bir veya iki adımla dengesini sağlıyor.

1: Silik: Üç beş adım atıyor, ancak yardıma ihtiyaç duymadan dengesini sağlıyor.

2: Hafif: Beş adımdan fazla atıyor; ancak yardıma ihtiyaç duymadan dengesini sağlıyor.

3: Orta: Güvenli bir şekilde ayakta duruyor, ancak postural cevabı yok; muayene eden kişi yakalamazsa düşüyor.

4: Şiddetli: Çok dengesiz, spontan veya omuzlarına küçük bir dokunuşla dengesini kaybetmeye meyilli.

www.frontline.com

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-13

3.13 Postür	Skor
<p>Değerlendirilen için yönerge: Postür, hasta sandalyeden kalkıp ayakta dururken, yürüyüş sırasında veya postürel reflektörler için muayene edilirken değerlendirilir. Eğer postürde bozukluk fark ederseniz hastaya dümdüz ayakta durmasını söyleyin ve postürünün düzelip düzelmediğine bakan (aşağıda 2. seçeneğe bakan). Bu üç gözlem noktasından en kötü postüre göre puanlayın. Fleksiyon ve yanlara eğilme açısından gözlemleyin.</p>	
0: Normal: Herhangi bir sorun yok.	
1: Silik: Tam dik duramıyor; ama daha yaşlı bir insan için normal sayılabilecek bir postürü var.	-----
2: Hafif: Belirgin fleksiyon, skolyoz veya bir tarafa eğilme; ancak hasta uyanıdığı zaman postürünü normal postür haline getirebiliyor.	
3: Orta: Hastadan istendiği zaman düzeltilemeyen kambur postür, skolyoz veya bir tarafa eğilme.	
4: Şiddetli: Postürde aynı anomallikle birlikte fleksiyon, skolyoz veya eğilme.	
3.14 Harekette Genel Spontanlık (Gövde Bradikinezi)	Skor
<p>Değerlendirilen için yönerge: Bu genel ölçüm, jest ve bacak bacak üstüne atmada azalmayı da içine alacak şekilde yavaşlık, duraksama, düşük amplitüd ve hareketin fakirliğine dair gözlemleri genel olarak birleştirir. Bu değerlendirme otururken veya ayağa kalkarken ve yürürken değerlendirilen tarafından gözlemlenen spontan jestler üzerine kuruludur.</p>	
0: Normal: Herhangi bir sorun yok.	
1: Silik: Silik global yavaşlama ve spontan hareketlerin yokluğu.	-----
2: Hafif: Hafif global yavaşlama ve spontan hareketlerin yokluğu.	
3: Orta: Orta global yavaşlama ve spontan hareketlerde yokluğu.	
4: Şiddetli: Şiddetli global yavaşlama ve spontan hareketlerde yokluğu.	
3.15 Ellerde Postural Tremor	Skor
<p>Değerlendirilen için yönerge: Bu postürde görülen bütün tremor tipleri, re-emergent istirahat tremoru da dahil, ölçüme dahil edilmelidir. İki eli ayrı ayrı değerlendirin. Görülen en yüksek amplitüdü ölçün. Hastaya avuç içleri yere bakacak şekilde kollarını vücudunun ön tarafına doğru uzatmasını söyleyin. El bilekleri düz olmalı ve parmaklar birbirine değmeyecek şekilde rahatça birbirinden ayrılmış olmalı. Bu pozisyonu 10 saniye gözlemleyin.</p>	Sağ
0: Normal: Tremor yok.	-----
1: Silik: Tremor var; ancak amplitüdü 1 cm'den küçük.	
2: Hafif: Tremor amplitüdü en az 1 cm ; ancak 3 cm'den küçük.	Sol
3: Orta: Tremor amplitüdü en az 3 cm; ancak 10 cm'den küçük.	-----
4: Şiddetli: Tremor amplitüdü en az 10 cm	
3.16 Ellerde Kinetik Tremor	Skor
<p>Değerlendirilen için yönerge: Bu, parmak- burun testiyle değerlendirilir. Kol uzatılmış olarak başlanmalıdır. Doktor, hastanın parmağı dokunabileceği en uzak mesafede durmalıdır. En az üç kere parmak- burun manevrası yaptırın. Parmak- burun testi çok hızlı kol hareketleriyle oluşabilecek herhangi bir tremoru gözlemleyecek yavaşlıkta yapılmalıdır. İki eli ayrı ayrı değerlendirilerek diğer elle tekrar edin. Tremor hareketin başından sonuna veya hedefe ulaşırken (burun veya parmak) görülebilir. Görülen en yüksek amplitüdü ölçün.</p>	Sağ
0: Normal: Tremor yok.	-----
1: Silik: Tremor var; ancak amplitüdü 1 cm'den küçük.	
2: Hafif: Tremor amplitüdü en az 1 cm ; ancak 3 cm'den küçük.	Sol
3: Orta: Tremor amplitüdü en az 3 cm; ancak 10 cm'den küçük.	-----
4: Şiddetli: Tremor amplitüdü en az 10 cm.	

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-14

3.17 İstirahat Tremoru Amplitüdü

Skor

Değerlendirilen için yönerge: Bu ve sonraki madde değerlendiren kişinin muayenesinin herhangi bir anında olabilecek, sakın sakın otururken, yürürken ve bazı vücut bölümlerinin hareket edip geri kalanının istirahatte olduğu zamanlar dahil, istirahat tremoruna dair gözlemlerini toparlamasına imkan tanımak için özellikle muayenesinin sonuna yerleştirilmiştir. Son skor olarak herhangi bir anda görülen en yüksek amplitüdü ölçün. Tremorun sürekliliği veya aralıklı olmasını değil, sadece tremorun amplitüdünü değerlendirin. Bu değerlendiriminin bir parçası olarak hasta 10 saniye boyunca başka bir yönlendirme olmaksızın kolları sandalyenin kollarına yerleştirilmiş (kucağında olmayacak) ve ayaklar rahatça yere değecek şekilde sakince oturmalı. İstirahat tremoru dört ekstremité için ve dudak/çene için ayrı ayrı değerlendirilir. Son skor olarak herhangi bir anda görülen en yüksek amplitüdü ölçün.

3.17 a. Ekstremité skorlaması

0: Normal: Tremor yok.	1: Sıllık: En yüksek amplitüd < 1 cm.
2: Hafif: En yüksek amplitüd > 1 cm; ancak < 3 cm.	3: Orta: En yüksek amplitüd 3 - 10 cm.
4: Şiddetli: En yüksek amplitüd > 10 cm.	

3.17b. Dudak/çene skorlaması

Skor

0: Normal: Tremor yok.	1: Sıllık: En yüksek amplitüd < 1 cm.
2: Hafif: En yüksek amplitüd > 1 cm; ancak < 2 cm.	3: Orta: En yüksek amplitüd > 2 cm; ancak < 3 cm.
4: Şiddetli: En yüksek amplitüd > 3 cm.	

3.18 Tremorun Devamlılığı

Skor

Değerlendirilen için yönerge: Bu madde bütün bölgeler için tek bir skorlamaya sahiptir ve muayene periyodu sırasında, değişik vücut bölümleri farklı zamanlarda istirahatteyken, istirahat tremorunun sürekliliğine odaklanır. Ölçek süresince gözlem yapıp değerlendirmeye eklenebilmesi için özellikle muayenesinin sonunda skorlanır.

0: Normal: Tremor yok.	-----
1: Sıllık: Tremor bütün muayene süresinin < 25% lik diliminde mevcut.	
2: Hafif: Tremor bütün muayene süresinin 26-50% lik diliminde mevcut.	
3: Orta: Tremor bütün muayene süresinin 51-75% lik diliminde mevcut.	
4: Şiddetli: Tremor bütün muayene süresinin > 75% lik diliminde mevcut.	

Bölüm 3 Skorlamasına Diskinezinin Etkisi

A. Muayene sırasında diskinezi (kore veya distoni) mevcut muydu?	<input type="checkbox"/> Hayır	<input type="checkbox"/> Evet
B. Eğer evetse, bunlar muayene bulgularınızı etkiledi mi?	<input type="checkbox"/> Hayır	<input type="checkbox"/> Evet

Hoehn - Yahr Evrelemesi

Skor

Evre 0- Hastalık bulgusu yok.	-----
Evre 1- Tek taraflı hastalık.	
Evre 2- Bilateral hastalık, denge bozukluğu yok.	
Evre 3- Hafif orta bilateral hastalık ve bir miktar postural kararsızlık, fiziksel olarak bağımsız.Çekme testinde toparlanmak için yardıma ihtiyaç duyuyor.	
Evre 4- Şiddetli özürülük, yarımsız ayakta durabilir ve yürüyebilir.	
Evre 5- Yardımsız tekerlekli sandalyeye ya da yatağa bağımlı.	

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-15

Bölüm 4: Motor Komplikasyonlar

Genel Bilgi ve Yönerge: Bu bölümde, değerlendiren, iki motor komplikasyonu, diskinezi ve motor dalgalanmaları (OFF - distoni dahil), değerlendirmek için anamnestik ve nesnel bilgileri kullanır. Bugün dahil geçtiğimiz haftadaki fonksiyonu altı soruda özetlemek için hasta ve hasta bakıcısının verdiği bütün bilgileri ve muayeneyi kullanın. Diğer bölümlerdeki gibi sadece tam sayı kullanarak skorlama yapın (yarım puanlar kullanılmamalı) ve eksik skorlama bırakmayın. Eğer madde skorlanamıyorsa değerlendirilemedi anlamında D yazın. Yüzelere göre bazı cevaplar seçmeniz gerekecek ve bu yüzden kaç saatin uyanık geçirildiğini belirlemeli ve bu sayıyı "OFF" zamanı ve diskineziler için payda olarak kullanmalısınız. "OFF distonisi" için "OFF" zamanının tamamı payda olur. Değerlendiren kişinin kullanması için işlevsel açıklamalar

Diskineziler: İstemsiz rasgele hareketler. Hastaların diskineziler için bazen kullandığı kelimeler "düzensiz ani hareketler", "kıpırda", "seğirme" "atma"yı içerebilir. Hastaların diskinezileri değerlendirirken yaptığı yaygın hata olan diskinezi ve tremor arasındaki farkı hastaya vurgulamak önemlidir.

Distoni: Sıklıkla dönme komponentiyle birlikte bükük postür. Hastaların distoni için sıklıkla kullandığı kelimeler "kasılma", "kramp" ve "bükülme"dir.

Motor dalgalanma: İlaça değişken cevap. Hastaların motor dalgalanma için sıklıkla kullandığı kelimeler "ilaç etkisinin çabuk bitmesi", "bir iyi bir kötü olma", "on-off", "ilaçın bazen etki etmemesi"dir.

OFF: Hastaların tedaviye rağmen kötü cevap verdiği tipik fonksiyonel durum veya hastaların parkinsonizm için tedavi almadığı süredeki tipik fonksiyonel cevap. Hastaların sıklıkla kullandığı ifadeler "kötüleşme", "kötü zaman", "titreme", "yavaşlık", "ilaçın etkisinin geçtiği zaman"dir.

ON: Hastaların tedavi aldığı ve tedaviye iyi yanıt verdikleri tipik fonksiyonel durum. Hastaların sıklıkla kullandığı ifadeler "iyi zaman", "hastalığın yokmuş gibi olduğu zaman", "ilaçlanmanın işe yaradığı zaman"ı içerir.

A. Diskineziler (OFF- Distonileri Hariç)

4.1 Diskinezilerle Geçirilen Zaman

Skor

Değerlendiren için yönerge: Bir gündeki uyanık geçirilen toplam saatleri sonra da diskinezilerin saatlerini değerlendirin. Yüzeyle hesaplayın. Eğer hastanın muayene odasındaysanız diskinezileri varsa, hasta ve hasta bakıcısının neyi değerlendireceklerini anladıklarından emin olmak için bunları örnek olarak gösterebilirsiniz. Ayrıca hastada aha önceden gördüğünüz diskinetik hareketleri canlandırmak için veya diğer hastalarda tipik olarak görülen diskinetik hareketleri göstermek için oyunculuk yeteneğinizi kullanabilirsiniz. Sabah erken saatlerde ve gece süresince olan ağırlı distonileri bu soruda göz ardı edin.

Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge: Geçtiğimiz hafta içinde gece uykusu ve gündüz kestirmeler dahil olmak üzere genel olarak günde kaç saat uyudunuz? Pekala eğer ____ saat uyuyorsanız, ____ saat uyanıksınız. Uyanık olduğunuz bu saatlerin toplam kaçında "düzensiz ani hareketler", "kıpırtı", "seğirme" niz oldu? Düzenli uyanık ayağına sallanma (titreme) olan tremorunuzun veya sabah erken saatlerde veya gece saatlerinde olan ağırlı ayak krampları veya spazmlarınızın olduğu zamanları saymayın. Bunları daha sonra soracağım. Sadece bu "düzensiz ani hareketler", "kıpırtı", "seğirme" üzerine düşünün. Uyanık olduğunuz zaman aralığı içindeki genel olarak bunların olduğu zamanları toplayın. Kaç saat ____ (hesaplamanız için bu sayıyı kullanın).

0: Normal: Diskinezi yok.

1: Sıllık: Uyanık geçirilen saatlerin toplamının yüzde 25'inden azı.

2: Hafif: Uyanık geçirilen saatlerin toplamının yüzde 26 – 50'si.

3: Orta: Uyanık geçirilen saatlerin toplamının yüzde 51 – 75'i.

4: Şiddetli: Uyanık geçirilen saatlerin toplamının yüzde 75'inden fazlası.

1. Uyanık geçirilen saat: _____

2. Diskinezili saat: _____

3. Diskinezi Yüzdesi = ((2/1)*100): _____

www.ftronline.com

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-16

4.2 Diskineziden Fonksiyonel Etkilenme

Skor

Değerlendiren için yönerge: Diskinezinin aktiviteler ve sosyal etkileşim açısından hastanın günlük fonksiyonlarını ne derece etkilediğini belirleyin. En uygun şekli bulmak için hastanın ve hasta bakıcısının sizin sorunuza verdiği cevaptan ve muayeneniz sırasındaki gözlemlerinizi kullanın.

Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge: Geçtiğimiz hafta içinde bu düzensiz ani hareketler olduğunda işlerinizi yapmakta veya başkalarıyla vakit geçirmekte genel olarak zorlandınız mı? Bu hareketler yaptığınız işe veya insanlarla vakit geçirmenize engel oldu mu?

0: Normal: Diskinezi yok veya diskinezi günlük işler veya sosyal etkileşimleri etkilemiyor.

1: Sılık: Diskineziler bazı işleri etkiliyor, ancak hasta genelde diskinetik periyodlar süresince bütün işlere ve sosyal etkileşimlere devam ediyor.

2: Hafif: Diskineziler pek çok işi etkiliyor, ancak hasta genelde diskinetik periyodlar süresince bütün işlere ve sosyal etkileşimlere devam ediyor.

3: Orta: Diskineziler, hastaların diskinetik periyodlar süresince genel olarak bazı işleri yapamaması veya bazı sosyal etkinliklere katılamamasına sebep olacak kadar işleri etkiliyor.

4: Şiddetli: Diskineziler, hastaların diskinetik periyodlar süresince genel olarak çoğu işleri yapamaması veya bazı sosyal etkinliklere katılamamasına sebep olacak kadar işleri etkiliyor.

B. Motor Dalgalanmalar

4.3 OFF Durumunda Geçirilen Zaman

Skor

Değerlendiren için yönerge: 4.1'de hesaplanan uyanık geçirilen saatlerin sayısını kullanın ve "OFF" durumunda kaç saat geçirildiğini belirleyin. Yüzdeyi hesaplayın. Eğer hasta muayene sırasında OFF periyodundaya o durumu örnek olarak gösterebilirsiniz. Tipik OFF periyodunu tarif etmek için hastaya dair bildiklerinizi de kullanabilirsiniz. Ayrıca hastada daha önceden gördüğünüz diskinetik hareketleri canlandırmak için veya diğer hastalarda tipik olarak görülen diskinetik hareketleri göstermek için oyunculuk yeteneğinizi kullanabilirsiniz. "OFF" süresinin tipik olarak kaç saat olduğunu not edin; çünkü bu sayıya 4.6'ya doldururken ihtiyacınız olacak.

Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge: Parkinson hastalığı olan bazı hastalar uyanık olduğu zamanlarda tedaviye iyi yanıt verir ve bu duruma biz "ON" zamanı deriz. Diğer hastaların tedavi almalarına rağmen "kötüleşme", "kötü zaman", "titreme", "yavaşlık", "ilacın etkisinin geçtiği zaman" gibi saatleri olabilir. Bu kötü hissedilen zaman aralıklarına doktorlar "OFF" zamanı der. Daha önceden geçtiğimiz hafta içinde genel olarak her gün ____ kadar saat uyanık olduğunuzu söyleyiniz. Uyanık geçirdiğiniz bu saatler içinde toplam kaç saat bu kötü durumunuz veya OFF durumunuz oluyor? ____ (Bu sayıyı hesaplamalarnız için kullanın.)

0: Normal: OFF zamanı olmuyor.

1: Sılık: Uyanık geçirilen zamanın yüzde 25'inden azı.

2: Hafif: Uyanık geçirilen zamanın yüzde 26 – 50'si.

3: Orta: Uyanık geçirilen zamanın yüzde 51 – 75'i.

4: Şiddetli: Uyanık geçirilen zamanın yüzde 75'inden fazlası.

1. Uyanık geçirilen saat toplamı: _____

2. Toplam OFF saati: _____

3. % OFF = ((2/1)*100): _____

4.4 Motor Dalgalanmalardan Fonksiyonel Etkilenme

Skor

Değerlendiren için yönerge: Motor dalgalanmaların aktiviteler ve sosyal etkileşim açısından hastanın günlük fonksiyonlarını ne derece etkilediğini belirleyin. Bu soru on durumu ve OFF durumu arasındaki farklara odaklanır. Eğer hastanın "OFF" olduğu zaman hiç yoksa oran 0 olmalıdır; eğer hastada hafif dalgalanmalar olmasına rağmen aktiviteler hiç etkilenmiyorsa oranın yine 0 olması mümkündür. En uygun şekli bulmak için hastanın ve hasta bakıcısının sizin sorunuza verdiği cevaptan ve muayeneniz sırasındaki gözlemlerinizi kullanın.

Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge: Geçtiğimiz hafta içinde kötü hissettiğiniz veya "OFF" zamanlarını düşünün. Bütün gün ilaçlarınızın işe yaradığını düşündüğünüz zamanla karşılaştırdığınızda işinizi yapmakta veya başka insanlarla vakit geçirmekte genel olarak zorlanıyor musunuz? İyi zamanlarınızda genel olarak yaptığınız ancak kötü zamanlarınızda yapmakta zorlandığınız veya yapamadığınız şeyler var mı?

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Sayfa-17

0: Normal: Motor dalgalanmalar yok veya günlük işler veya sosyal etkileşimleri etkilemiyor.	-----
1: Silik: Dalgalanmalar bazı işleri etkiliyor; ancak hasta OFF süresince tipik olarak ON durumunda yaptığı bütün işleri yapmaya ve sosyal etkileşimde bulunmaya devam ediyor.	
2: Hafif: Dalgalanmalar pek çok işi etkiliyor; ancak hasta yine de OFF süresince tipik olarak ON durumunda yaptığı bütün işleri yapmaya ve sosyal etkileşimde bulunmaya devam ediyor.	
3: Orta: Dalgalanmalar, hastaların OFF süresince genel olarak ON periyodunda yaptığı bazı işleri yapamaması veya ON periyodunda katıldığı bazı sosyal etkinliklere katılamamasına sebep olacak kadar işleri etkiliyor.	
4: Şiddetli: Dalgalanmalar, hastaların OFF süresince genel olarak ON periyodunda yaptığı çoğu işi yapamaması veya ON periyodunda katıldığı çoğu sosyal etkinliğe katılamamasına sebep olacak kadar işleri etkiliyor.	

4.5 Motor Dalgalanmaların Karmaşıklığı

Skor

<p>Değerlendirilen için yönerge: OFF fonksiyonunun genel olarak doza, günün belirli saatine, yemek yemeye veya başka bir faktöre bağımlı olarak tahmin edilebileceğini değerlendirin. Kendi gözleminize ek olarak hastanın ve hasta bakımıcısının size verdiği bilgileri kullanın. Hastaya OFF zamanlarının öngörülebilirliğini soracaksınız. Onları güvenilir bir şekilde her zaman mı öngörebilir, çoğunlukla mı öngörebilir (bu durumda silikle hafifli ayırmak için daha fazla detaya inmelisiniz), bazen mi öngörebilir ya da OFF zamanları tamamen rastgele midir? Yüzdeyi düşürmek doğru cevabı bulmanızda yardımcı olur.</p> <p>Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge: Bazı hastalar için kötü veya "OFF" dönemler günün belirli bir zamanında veya yemek yemek, spor yapmak gibi aktiviteler yaptığında ortaya çıkar. Geçtiğimiz hafta içinde kötü dönemlerinizin genel olarak ne zaman olduğunu daha önceden bilebiliyor musunuz? Yani, kötü zamanlarınız her zaman belirli bir saatte mi oluyor? Çoğunlukla belirli bir saatte mi oluyor? Bazen belirli bir saatte mi oluyor? Kötü zamanlarınız tamamen öngörülemez mi?</p>	-----
0: Normal: Motor dalgalanma yok.	
1: Silik: OFF zamanları hep veya neredeyse hep tahmin edilebiliyor (>%75).	
2: Hafif: OFF zamanları çoğu zaman tahmin edilebiliyor (%51-75).	
3: Orta: OFF zamanları bazen tahmin edilebiliyor (%26-50).	
4: Şiddetli: OFF zamanları nadiren tahmin edilebiliyor (<%25).	

C. "OFF" Distonisi

4.6 OFF Dönemi Ağrılı Distonisi

Skor

<p>Değerlendirilen için yönerge: Motor dalgalanmaları olan hastalarda genel olarak ağrılı distoni ile seyreden OFF dönemlerinin oranını belirleyin. OFF zamanının kaç saat sürdüğünü daha önceden belirlediniz (4.3). Bu saatler içinden ne kadarında distoni görüldüğünü belirleyin ve yüzdeyi hesaplayın. Eğer OFF zamanı olmuyorsa 0'ı işaretleyin.</p> <p>Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge: Size daha önceden sorduğum sorulardan birinde Parkinson hastalığınız tam olarak kontrol altında tutulamadığı zamanlarda ____ saat kötü veya "OFF" zamanınız olduğunu söylediniz. Bu kötü veya "OFF" zamanlarda genelde ağrılı krampları ve spazmlarınız olur mu? Eğer gün içinde bu ağrılı krampları olduğu bütün zamanları toplarsanız ____ saatlik kötü zamanınızın kaç saatini oluşturur?</p>	-----	
0: Normal: Distoni veya OFF zamanı yok.		
1: Silik: OFF zamanının yüzde 25'inden azı.		
2: Hafif: OFF zamanının yüzde 26-50'si.		
3: Orta: OFF zamanının yüzde 51-75'i.		
4: Şiddetli: OFF durumundaki zamanın yüzde 75'inden fazlası.		
1. Toplam OFF saati: _____	2. Toplam distoni görülen OFF saati: _____	3. OFF distoni yüzdesi= ((2/1)*100): _____

Hasta İçin Özet Açıklama: Hastaya Okuyun

Böylece Parkinson hastalığınıza dair değerlendirmem bitti. Soruların ve yapmanızı istediğim hareketlerin zaman aldığı biliyorum; ancak bütün olasılıkları göz önüne alıp tam yapmak istedim. Bunun için sizde olmayan ve hatta hiç gelişmeyecek olan sorunlardan bahsetmiş olabilirim. Bütün hastalarda bütün bu problemler görülmez; ancak görülebileceği için her soruyu hastaların hepsine yöneltmek önemlidir. Bu ölçeği benimle birlikte doldurmak için zaman ayırdığınız ve dikkatinizi verdiğiniz için teşekkür ederim.

Birleşik Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği Toplu Skor Cetveli

Hastanın Adı Soyadı:			Tarih:				
			Skor				Skor
1A	Bilginin esas olarak alındığı kişi: <input type="checkbox"/> Hasta <input type="checkbox"/> Bakıcı <input type="checkbox"/> Her ikisi				100	Rijidite- SağÜstEkstremité	-----
Bölüm 1					101	Rijidite- SolÜstEkstremité	-----
1.1	Rogatif tutulum	-----			102	Rijidite- SağAltEkstremité	-----
1.2	Varuslar ve psiko	-----			103	Rijidite- SolAltEkstremité	-----
1.3	Depresyon	-----			104	Parmak vurma- sağ	-----
1.4	Anksiyete	-----			105	Parmak vurma- sol	-----
1.5	Apati	-----			106	El hareketleri- sağ	-----
1.6	DDS	-----			107	El hareketleri- sol	-----
1.6a	Bilginin esas olarak alındığı kişi: <input type="checkbox"/> Hasta <input type="checkbox"/> Bakıcı <input type="checkbox"/> Her ikisi				108	Elin pronasyon supinasyonu- sağ	-----
1.7	Uyku sorunları	-----			109	Elin pronasyon supinasyonu- sol	-----
1.8	Gündüz uyuklama	-----			110	Ayak vurma- sağ	-----
1.9	Ağrı ve diğer duyuşsal sorunlar	-----			111	Ayak vurma- sol	-----
1.10	Öneme sorunları	-----			112	Bacak hareketleri- sağ	-----
1.11	Konstipasyon	-----			113	Bacak hareketleri- sol	-----
1.12	Ayakta durarken iç geçme	-----			114	Sandalyeden kalkma	-----
1.13	Halsizlik	-----			115	Yürüyüş	-----
Bölüm 2					116	Yürürken durma	-----
2.1	Konuşma	-----			117	Postürel instabilite	-----
2.2	Siyalans	-----			118	Postür	-----
2.3	Çiğneme ve yutma	-----			119	Genel spontanlık	-----
2.4	Yeme	-----			119a	Ellerde postural tremor- sağ	-----
2.5	Giyme	-----			119b	Ellerde postural tremor- sol	-----
2.6	Hijyen	-----			119c	Ellerde kinetik tremor- sağ	-----
2.7	Yazma	-----			119d	Ellerde kinetik tremor- sol	-----
2.8	Hobi ve diğer ince motor etkinlikler	-----			117a	İstirahat tremoru amplitüdü- SağÜstEkstremité	-----
2.9	Yatağa dönme	-----			117b	İstirahat tremoru amplitüdü- SolÜstEkstremité	-----
2.10	Tremorun günlük etkinliklere etkisi	-----			117c	İstirahat tremoru amplitüdü- SağAltEkstremité	-----
2.11	Yatağa yatıp kalkma, sandalyeye oturup kalkma	-----			117d	İstirahat tremoru amplitüdü- SolAltEkstremité	-----
2.12	Yürüme ve denge	-----			117e	İstirahat tremoru amplitüdü- dudak/çene	-----
2.13	Durma	-----			118	Tremorun devamlılığı	-----
2a	Hasta ilaç kullanıyor mu?	<input type="checkbox"/> Hayır <input type="checkbox"/> Evet				Dinlenilme var mıydı?	<input type="checkbox"/> Hayır <input type="checkbox"/> Evet
2b	Hastanın klinik durumu	<input type="checkbox"/> OFF <input type="checkbox"/> ON				Bu hareketleri muayeneyi engelledi mi?	<input type="checkbox"/> Hayır <input type="checkbox"/> Evet
2c	Hasta levodopa alıyor mu?	<input type="checkbox"/> Hayır <input type="checkbox"/> Evet			Hoehn- Yahr Evresi		
2C1	Evetse, son dozdan üzerinden kaç dakika geçmi?				Bölüm 4		
Bölüm 3					4.1	Dinlenilmele geçilen zaman	-----
3.1	Konuşma	-----			4.2	Dinlenmeden fonksiyonel etkilene	-----
3.2	Yürüme	-----			4.3	OFF durumunda geçilen zaman	-----
3.3a	Rijidite- boyun	-----			4.4	Motor dalgalanmaların fonksiyonel etkilene	-----
					4.5	Motor dalgalanmaların karmaşıklık	-----
					4.6	OFF dönemi ağırlı distonisi	-----

EK-4. Hoehn ve Yahr Skalası

Parkinson Hoehn - Yahr Evrelemesi

Modified Hoehn & Yahr Scale

Hastanın Adı Soyadı: _____ Tarih: ____/____/____

Evre	Açıklama
1	Tek taraflı tremor, rijidite, akinezi veya postüral dengesizlik. Semptomlar hafiftir.
1,5	Tek taraflı ve aksiyel tutulum
2	İki taraflı tremor, rijidite, akinezi veya bradimimi, yutma güçlükleri, aksiyel rijidite (özellikle boyun), öne eğilmiş postür, yavaş veya ayağını sürüyerek yürüme ve genel katılık gibi aksiyel bulgularla birlikte veya tek başına postüral anormallikler. Minimal özürülük bulunabilir.
2,5	Çekme testinde düzelme ile ılımlı bilateral hastalık
3	Evre 2'deki bulgulara ilaveten hastada denge bozuklukları vardır, ancak hastanın tüm aktivitelerini bağımsız olarak yapabilir. Orta düzeyde fonksiyon bozukluğu mevcuttur.
4	Hasta günlük aktivitelerinin bir kısmında veya tamamında yardıma ihtiyaç duyar. Ciddi semptomlar ve belirgin özürülük.
5	Hasta tekerlekli sandalyeye veya yatağa bağımlı durumdadır.

Hoehn MM, Yahr MD (1967) Neurology. 1967; 17:427-42.

Goetz CG, Poewe W (2004) Mov Disord. 2004;19:1020-8.

Hastanın Evresi: _____

EK-5. Geriatrik Depresyon Ölçeği

GERİATRİK DEPRESYON ÖLÇEĞİ (GDS)

Lütfen yaşamınızın son bir haftasında kendinizi nasıl hissettiğinize ilişkin aşağıdaki soruları kendiniz için uygun olan yanıtı işaretleyerek yanıtlayınız.

	Evet	Hayır
1) Yaşamınızdan temelde memnun musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2) Kişisel etkinlik ve ilgi alanlarınızın çoğunu halensürdürüyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3) Yaşamınızın bomboş olduğunu hissediyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4) Sık sık canınız sıkılır mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5) Gelecekte umutsuz musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6) Kafanızdan atamadığınız düşünceler nedeniyle rahatsızlık duyduğunuz olur mu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7) Genellikle keyfiniz yerinde midir?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8) Başınıza kötü bir şey geleceğinden korkuyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9) Çoğunlukla kendinizi mutlu hissediyormusunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10) Sık sık kendinizi çaresiz hissediyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11) Sık sık huzursuz ve yerinde duramayan biri olur musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12) Dışarıya çıkıp yeni bir şeyler yapmaktansa, evde kalmayı tercih eder misiniz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13) Sıklıkla gelecekte endişe duyuyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14) Hafızanızın çoğu kişiden daha zayıf olduğunu hissediyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15) Sizce şu anda yaşıyor olmak çok güzel bir şey midir?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16) Kendinizi sıklıkla kederli ve hüzünlü hissediyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17) Kendinizi şu andaki halinizle değersiz hissediyormusunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18) Geçmişle ilgili olarak çokça üzülüyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
19) Yaşamı zevk ve heyecan verici buluyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
20) Yeni projelere başlamak sizin için zor mudur?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
21) Kendinizi enerji dolu hissediyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
22) Çözumsuz bir durum içinde bulunduğunuzu düşünüyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
23) Çoğu kişinin sizden daha iyi durumda olduğunu düşünüyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
24) Sık sık küçük şeylerden dolayı üzülür müsünüz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
25) Sık sık kendinizi ağlayacakmış gibi hisseders misiniz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
26) Dikkatinizi toplamakta güçlük çekiyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
27) Sabahları güne başlamak hoşunuza gidiyor mu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
28) Sosyal toplantılara katılmaktan kaçınır mısınız?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29) Karar vermek sizin için kolay oluyor mu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
30) Zihniniz eskiden olduğu kadar berrak mıdır?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Hastanın Adı, Soyadı:

EK-6. Epworth Uykululuk Ölçeği

EPWORTH UYKULULUK ÖLÇEĞİ EPWORTH SLEEPINESS SCALE

Lisans Tipi ve Numarası, license Type and No:					
Muvayene Tarihi, Examination Date:					
Mevcutluk Tıp Merkezi, AEMC:					
Soyadı Adı, Surname Fornames:					
Jyruğu, Nationality:					
Doğum Tarihi, Date of Birth:					
30y, Height (cm)	1	Kilo, Weight (kg)	VKİ, BMI (kg/m ²)		
Başvuru, Application: <input type="radio"/> İlk, Initial <input type="radio"/> Temdit, Revalidation <input type="radio"/> Yenileme, Renewal <input type="radio"/> Diğer, Other <input type="radio"/> Kaza Kırım, Accident <input type="radio"/> Alkol-Psikoaktif Madde Tarama, Alcohol-Drug Abuse Control		Cinsiyet, Sex: <input type="radio"/> Erkek, Male <input type="radio"/> Kadın, Female	Başvurulan Sağlık Sertifika Sınıfı, Medical Certificate Applied For: <input type="radio"/> D Sınıf 1 <input type="radio"/> D <input type="radio"/> O Sınıf 3 <input type="radio"/> O		
		İşveren, Employer:			
		Kan Basıncı, Blood Pressure			
		Nabız, Rate			
		Sys	Dys		
		Hız, Rate	Ritim, Rhythm		
<p>Aşağıdaki durumlarda hangi sıklıkla uykulama eğilimindedir? (Lütfen kendinizi yorgun hissettiğiniz zamanları değil uykulama eğiliminde olanları işaretleyiniz.) Bu test son zamanlardaki durumunuzu yansıtmak üzere planlanmıştır. Aşağıdaki bazı durumlarda son zamanlarda yaşadığınız zamanlarda nasıl olduğunuzu hatırlamaya çalışınız. En önemlisi lütfen soruları yanıtlarken doğruları yazmaya çalışınız.</p> <p>How likely are you to doze off or fail asleep in the following situations, in contrast to feeling just tired? This refers to your usual way of life in recent times. If you haven't done some of these things recently try to work out how they would have affected you. Use the following scale to choose the most appropriate number for each situation. It is important that you answer each question as best you can.</p>					
Puan, Score:		0---- Hiçbir zaman uykulamam, would never doze			
		1---- Nadiren uykularım, slight chance of dozing			
		2---- Sıklıkla uykularım, moderate chance of dozing			
		3---- Her zaman uykularım, high chance of dozing			
	DURUM SITUATION	Hiç Never	Nadiren Slight Chance	Sıklıkla Moderate Chance	Her Zaman High Chance
1	Oturur durumda gazete ve kitap okurken uykularmısınız? Sitting and reading	0	1	2	3
2	Televizyon seyrederken uykularmısınız? Watching TV	0	1	2	3
3	Pasif olarak toplum içinde otururken, sinemada yada tiyatrodada uykularmısınız?, Sitting, inactive in a public place (e.g. a theatre or a meeting)	0	1	2	3
4	Ara vermeden en az 1 saatlik araba yolculuğunda uykularmısınız? As a passenger in a car far an hour without a break	0	1	2	3
5	Öğleden sonra uzanınca uykularmısınız? Lying down to rest in the afternoon when circumstances permit	0	1	2	3
6	Birisi ile oturup konuşurken uykularmısınız? Sitting and talking to someone	0	1	2	3
7	Alkol almamış, öğle yemeğinden sonra sessiz ortamda otururken uykularmısınız? Sitting quietly after a lunch without alcohol	0	1	2	3
8	Trafik birkaç dakika durduğunda, kırmızı ışıkta, arabada beklerken uykularmısınız?, in a car, while stopped for a few minutes in the traffic	0	1	2	3
Hastanın Yaşı ve Cinsiyeti:		TOPLAM/ TOTAL			
Başvuranın İmzası/ Signature Of Applicant		"AME'nin İmzası ve Kaşesi (Tanık) Signature of AME (Witness)"			

EK-7. Standardize Minimental Test

STANDARDİZE MİNİ MENTAL TEST

YÖNELİM (Toplam puan 10)

- Hangi yıl içindeyiz ()
Hangi mevsimdeyiz ()
Hangi aydayız ()
Bu gün ayın kaçı ()
Hangi gündeyiz ()
Hangi ülkede yaşıyoruz ()
Şu an hangi şehirde bulunmaktasınız ()
Şu an 'bulduğunuz semt neresidir ()
Şu an bulunduğunuz bina neresidir ()
Şu an bu binada kaçınıcı kattasınız ()

KAYIT HAFIZASI (Toplam puan 3)

- Size birazdan söyleyeceğim üç ismi dikkatlice dinleyip ben bitirdikten sonra tekrarlayın
(Masa, Bayrak, Elbise) (20 sn süre tanınır) Her doğru isim 1 puan ()

DİKKAT VE HESAP YAPMA (Toplam puan 5)

- 100'den geriye doğru 7 çıkartarak gidin. Dur deyinceye kadar devam edin.
Her doğru işlem 1 puan. (100, 93, 86, 79, 72, 65) ()

HATIRIAMA (Toplam puan 3)

- Yukarıda tekrar ettiğiniz kelimeleri hatırlıyor musunuz? Hatırladıklarınızı söyleyin.
(Masa, Bayrak, Elbise) ()

LİSAN (Toplam puan 9)

- a) Bu gördüğünüz nesnelerin isimleri nedir? (saat, kalem) 2 puan (20 sn tut) ()
b) Şimdi size söyleyeceğim cümleyi dikkatle dinleyin ve ben bitirdikten sonra tekrar edin.
"Eğer ve fakat istemiyorum" (10 sn tut) 1 puan ()
c) Şimdi sizden bir şey yapmanızı isteyeceğim, beni dikkatle dinleyin ve söylediğimi yapın.
"Masada duran kağıdı sağ/sol elinizle alın, iki elinizle ikiye katlayın ve yere bırakın lütfen"
Toplam puan 3, süre 30 sn, her bir doğru işlem 1 puan ()
d) Şimdi size bir cümle vereceğim. Okuyun ve yazıda söylenen şeyi yapın. (1 puan)
- "GÖZLERİNİZİ KAPATIN" (arka sayfada) ()
- e) Şimdi vereceğim kağıda aklınıza gelen anlamlı bir cümleyi yazın. (1 puan) ()
- f) Size göstereceğim şeklin aynısını çizin. (arka sayfada) (1 puan) ()



EK-8. Schwab ve England Günlük Yaşam Aktiviteleri Değerlendirme Sistemi

SCHWAB AND ENGLAND GYA DEğERLENDİRME SİSTEMİ

%100: Tam bağımsız: Tüm günlük işleri yavaşlama, zorluk ve yetersizlikle de olsa yapabilir.

%90: Tam bağımsız: Tüm günlük işleri bir miktar yavaşlama, zorluk ya da yetersizlikle yapabilir. (iki kat zaman alır)

%80: Çoğu işlerde bağımsız. Yavaşlama ve zorluk belirgin

%70: Tam bağımsız değil. Günlük işlerde daha fazla zorluk. (3-4 kat daha fazla zaman gerekir)

%60: Kısmen bağımlı. Çoğu işleri çok yavaş, zorlanarak yapar. Yanlışyapma olasılığı var.

%50: Daha fazla bağımlı. İşlerin yarısını yardımla yapar. Pek çok aktivitede zorluk eker.

%40: Çok bağımlı. Pek çok aktiviteyi yardımla yapabilir. Tek başına çok az aktiviteyi yapabilir.

%30: Çok az işi büyük çaba ile yalnız başına yapabilir.

%20: Yalnız başına hiçbir Şey yapamaz. Çok az yardım yapabilir.

%10: Tam bağımlı. Yardım edemez.

%0: Otonomik fonksiyonlar işlememektedir. Yatağa bağımlı.