
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

KOBAYLARDA APOLİPOPROTEİN B VE PARKİNSON HASTALIĞI İLE İLİŞKİLİ GENLER ARASINDAKİ KORELASYONUN ARAŞTIRILMASI

Pınar KAÇAMAK

DOKTORA TEZİ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MAYIS 2024

ETİK BEYAN

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

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

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

Pınar KAÇAMAK

03/05/2024

KOBAYLARDA APOLİPOPROTEİN B VE PARKİNSON HASTALIĞI İLE İLİŞKİLİ GENLER ARASINDAKİ KORELASYONUN ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

Pınar KAÇAMAK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2024

ÖZET

Kolesterolün taşınmasında görev alan apolipoprotein B (apo B) proteininin ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar dışında Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarla da bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda Parkinson hastalığında önemli bir rolü bulunan ve mitokondriyal fonksiyonla ilişkilendirilmiş PARKIN, PINK1 ve SNCA proteinleri ile apo B proteini arasındaki olası korelasyonun araştırılması amaçlanmıştır. 12 haftalık deney sonunda standart chow diyet veya kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen dişi ve erkek kobayların beyin ve beyincik dokularında qRT-PCR analizi yapılarak PARKIN, PINK1, SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ve immünohistokimyasal işaretleme yapılarak PARKIN, PINK1, SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN (ser65), fosfo-PINK1 (ser228), fosfo-SNCA (ser129) ve tirozin hidroksilaz (TH) proteinlerinin immün işaretleme yoğunlukları belirlendi. Serum, beyin ve beyincik dokularında apo B miktarı; serum örneklerinde kolesterol (CHOL), glukoz (GLU), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyeleri ölçüldü. Çalışmamızın sonunda histokimyasal bulgular incelendiğinde diğer gruplara göre kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen erkek kobayların bulunduğu grubun orta beyin ve beyin korteksi kesitlerindeki nöranal dejenerasyon daha belirgindi; ayrıca bu grubun beyin dokularındaki PARKIN ekspresyonunun ve özellikle orta beyin kesitlerindeki PINK1, fosfo-PINK1, SNCA, fosfo-SNCA ve TH'nin immün işaretleme yoğunluklarının arttığı bulundu. qRT-PCR analizi, ELISA ve immünohistokimyal işaretleme sonucunda elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde PARKIN, PINK1 ve SNCA proteinleri ile apo B proteini arasında korelasyon bulunmadı; ancak LDLR, TH ve fosfo-PARKIN proteinleri ile apo B proteini arasında korelasyon tespit edildi. Sonuç olarak çalışmamızda, kolesterol içeren yüksek yağlı diyetin erkek kobaylarda bölgeye özgü bir şekilde mitokondriyal disfonksiyonu tetiklediği ve Parkinson hastalığının nörodejenerasyon yolağında yer alan başta PARKIN olmak üzere PINK1 ve SNCA genlerinin de ekspresyon mekanizmalarını değiştirdiği gösterildi.

Bilim Kodu : 1033

Anahtar Kelimeler : Parkinson Hastalığı, Apolipoprotein B, SNCA, PARK2, PARK6

Sayfa Adedi : 296

Danışman : Prof. Dr. Çiğdem ELMAS

2. Danışman Prof. Dr. Hatice Ayşe TOKÇAER BORA

INVESTIGATION OF THE CORRELATION BETWEEN APOLIPOPROTEIN B AND PARKINSON'S DISEASE-RELATED GENES IN GUINEA PIGS

(Ph. D. Thesis)

Pınar KAÇAMAK

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

May 2024

ABSTRACT

Apolipoprotein B (apo B) protein, which is involved in the transport of cholesterol, is thought to be associated with neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease in addition to atherosclerosis and cardiovascular diseases. Therefore, we aimed to investigate the possible correlation between apo B protein and PARKIN, PINK1 and SNCA proteins, which have an important role in Parkinson's disease and are associated with mitochondrial function. At the end of the 12-week experiment, the expression levels of PARKIN, PINK1, SNCA and LDLR genes were determined by qRT-PCR analysis and the immunolabeling densities of PARKIN, PINK1, SNCA, LDLR, phospho-PARKIN (ser65), phospho-PINK1 (ser228), phospho-SNCA (ser129) and tyrosine hydroxylase (TH) proteins were determined by immunohistochemical labelling in the brain and cerebellum tissues of male and female guinea pigs fed with standard chow diet or high fat diet containing cholesterol. Apo B levels in serum, brain and cerebellum tissues; cholesterol (CHOL), glucose (GLU), high density lipoprotein (HDL) and low density lipoprotein (LDL) levels in serum samples were measured. When histochemical findings were analysed at the end of our study, neuronal degeneration in the midbrain and cerebral cortex sections of the group of male guinea pigs fed a high-fat diet containing cholesterol was more pronounced compared to the other groups; in addition, the expression level of PARKIN in brain tissues and the immunolabeling densities of PINK1, phospho-PINK1, SNCA, phospho-SNCA and TH especially in midbrain sections were found to be increased in this group. When the data obtained as a result of qRT-PCR analysis, ELISA and immunohistochemical labelling were evaluated together, no correlation was found between PARKIN, PINK1 and SNCA proteins and apo B protein; however, a correlation was found between LDLR, TH and phospho-PARKIN proteins and apo B protein. In conclusion, our study demonstrated that high-fat diet containing cholesterol triggers mitochondrial dysfunction in male guinea pigs in a region-specific manner and alters the expression mechanisms of PINK1 and SNCA genes, especially PARKIN, which are involved in the neurodegeneration pathway of Parkinson's disease.

Science Code : 1033

Key Words : Parkinson’s Disease, Apolipoprotein B, SNCA, PARK2, PARK6

Page Number : 296

Supervisor : Prof. Dr. Çiğdem ELMAS

Co Supervisor : Prof. Dr. Hatice Ayşe TOKÇAER BORA

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi birikimlerini benimle paylaşan, değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, kıymetli tecrübelerinden faydalandığım danışmanlarım; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanımız saygı değer Prof. Dr. Çiğdem Elmas'a ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda görev yapan saygı değer Prof. Dr. Hatice Ayşe Tokçaer Bora'ya teşekkür ederim. Anabilim dalımızda görev yapan ve doktora eğitimim süresince bilgi birikimlerinden faydalandığım saygı değer hocalarım Prof. Dr. Suna Ömeroğlu'na, Prof. Dr. Gülnur Take Kaplanoğlu'na, Doç. Dr. Cemile Merve Seymen'e, Dr. Öğr. Üyesi Zeynep Yığman'a, Dr. Öğr. Üyesi Duygu Dayanır'a ve Dr. Öğr. Üyesi Süheyla Esra Savari Özkoçer'e teşekkür ederim. Bilgi birikimlerini benimle paylaşan ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda görev yapan Prof. Dr. Şevin Güney'e, Gazi Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu'nda görev yapan Doç. Dr. Seniha Selcen Babaoğlu Aydaş'a ve TDK-2022-7895 proje koduyla tez çalışmamı destekleyen Gazi Üniversitesi BAP birimine teşekkür ederim. Kobayların sakrifikasyonu sırasında yardımlarını eksik etmeyen; Amasya Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'nda görev yapan Arş. Gör. Dr. Deniz İrem Bulut'a, anabilim dalımızda görev yapan Arş. Gör. Dr. Gökçe Nur Arık Erol'a, Arş. Gör. Müşerref Şeyma Ceyhan'a, Arş. Gör. Dr. Derya Adıgüzel'e, Arş. Gör. Dr. Furkan Batuhan Çetin'e, Arş. Gör. Dr. İrem Kesler'e ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda görev yapan Teknisyen Başak Kılıç'a teşekkür ederim. Ayrıca hiçbir zaman desteğini esirgemeyen anabilim dalımızda görev yapan Arş. Gör. Asiye Aslı Emniyet Sert'e ve tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana yol gösteren, destek olan ve sevgilerini benden hiçbir zaman esirgemeyen saygı değer annem Naime Kaçamak'a ve saygı değer babam İsmail Kaçamak'a teşekkür ederim. Her zaman saygı ve sevgiyle hatırlayacağım, daima yanımda olduklarını hissettiğim saygı değer anneannem Rabia Yapıcıoğlu'nu ve saygı değer dedem Halil İbrahim Yapıcıoğlu'nu büyük bir özlemle anıyorum. Çok sevdiğim kedi kızlarım Melek'in ve Işık'ın, doktora tez sürecinde huzurlu olmamı sağlayan varlıklarına minnettarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET…….. iv

ABSTRACT……... v

TEŞEKKÜR……... vi

İÇİNDEKİLER……... vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ……. xii

ŞEKİLLERİN LİSTESİ……. xix

RESİMLERİN LİSTESİ……. xxi

SİMGELER VE KISALTMALAR……..... xxxii

1. GİRİŞ…….. 1

2. GENEL BİLGİLER…….. 7

2.1. Beyin Gelişimi……. 7

2.1.1. Notokord oluşumu……. 7

2.1.1. Nörülasyon……. 7

2.1.2. Nöral tüpün histolojik farklanması……... 9

2.1.3. Primer ve sekonder beyin vezikülleri……... 10

2.1.4. Beyin fleksürleri……... 11

2.1.5. Rombensefalon……. 11

2.1.6. Mezensefalon……..... 13

2.1.7. Prosensefalon…… 14

2.1.8. Beyin gelişiminin moleküler düzeyde denetlenmesi……..... 20

2.2. Beyincik Gelişimi……..... 22

2.3. Beyin Anatomisi…….. 24

2.3.1. Beyin ve medulla spinalis zarları…….. 24

2.3.2. Ventriküler sistem ve BOS (beyin-omurilik sıvısı, serebrospinal sıvı, liquor cerebrospinalis)……..... 25

Sayfa

2.3.3. Beyin sapı (truncus encephali, truncus cerebri)……. 28

2.3.4. Serebrum…… 32

2.3.5. Bazal ganglionlar (bazal çekirdekler, nuclei basales)……..... 35

2.3.6. Beyin damarları…….. 38

2.4. Beyincik Anatomisi……... 39

2.4.1. Beyinciğin morfolojisi……... 39

2.4.2. Beyinciğin iç yapısı……... 40

2.4.3. Beyincik afferent lifleri……. 41

2.4.4. Beyincik efferent lifleri……. 41

2.4.5. Beyincik damarları…… 42

2.5. Merkezi Sinir Sistemi Histolojisi……. 42

2.5.1. Nöron……. 43

2.5.2. Merkezi sinir sisteminin destek hücreleri…….. 50

2.5.3. Koroid pleksus ve BOS (beyin-omurilik sıvısı, serebrospinal sıvı)…….. 53

2.5.4. Kan-Beyin Bariyeri……... 56

2.5.5. Kan damarları……..... 58

2.5.6. Meninksler……. 58

2.5.7. Merkezi sinir sisteminde dejenerasyon ve rejenerasyon……... 59

2.5.8. Serebral korteks ve beyaz madde (beyaz cevher, substantia alba) histolojisi 61

2.5.9. Orta beyin (midbrain) histolojisi……... 63

2.5.10. Beyincik (serebellum) histolojisi……. 64

2.6. Nöron Fizyolojisi Ve Merkezi Sinir Sistemi Fonksiyonunun Ana Seviyeleri…. 66

2.6.1. Aksonal transport sistemleri…….. 66

2.6.2. Membran potansiyelleri……. 67

2.6.3. Sinir impulsunun iletilmesi……..... 68

2.6.4. Sinaptik İletişim……. 70

Sayfa

2.6.5. Nörotransmitterler ve reseptörleri…….. 71
2.6.6. Merkezi Sinir Sistemi Fonksiyonunun Ana Seviyeleri…….. 75
2.7. Parkinson Hastalığı……... 76
2.7.1. Parkinson hastalığının epidemiyolojisi…….. 77
2.7.2. Parkinson hastalığının etiyolojisi……... 78
2.7.3. Parkinson hastalığının patolojisi…… 83
2.7.4. Parkinson hastalığının nörodejenerasyon mekanizması……. 85
2.8. Lipoprotein Metabolizması……... 87
2.8.1. Beyinde lipoprotein metabolizması……..... 90
2.8.2. Apolipoprotein B…… 92
2.8.3. Apolipoprotein B ve Parkinson hastalığı……..... 93
3. GEREÇ VE YÖNTEM……. 97
3.1. Deney Hayvanları Ve Deney Protokolü……..... 97
3.2. Deneklerde Ötenazi, Örneklerin Toplanması Ve Saklanması……... 98
3.3. Işık Mikroskop Takibi……... 98
3.4. Histokimyasal Analiz…… 99
3.4.1. Hematoksilen-eozin (H&E) boyama yöntemi…..…….... 99
3.4.2. Nötral red boyama yöntemi……..... 100
3.5. İmmünohistokimyasal Analiz……... 101
3.6. Biyokimyasal Analiz…… 103
3.7. ELISA……... 103
3.8. Real Time qPCR Yöntemi……..... 104
3.9. İstatistiksel Analiz……..... 107
4. BULGULAR……... 109
4.1 Kobayların Vücut Ağırlıklarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi……... 109
4.2. Histokimyasal Bulgular……..... 113

Sayfa

4.2.1. Hematoksilen-eozin (H&E) boyama bulguları…….. 113

4.2.2. Nötral red boyama bulguları…….. 120

4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular……... 128

4.3.1. PARK2 (PARKIN) immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi……. 128

4.3.2. PARK6 (PINK1) immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi……. 137

4.3.3. SNCA immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi ……. 146

4.3.4. LDLR immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi ……. 156

4.3.5. Fosfo-PARKIN immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi……. 166

4.3.6. Fosfo-PINK1 immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi……. 176

4.3.7. Fosfo-SNCA immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi……. 186

4.3.8. TH immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi… 195

4.4. Biyokimyasal Analiz Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi……. 206

4.5. ELISA Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi……..... 212

4.6. Real Time qPCR Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi…… 216

4.6.1. PARK2 (PARKIN) geni ekspresyon bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi……. 216

4.6.2. PARK6 (PINK1) geni ekspresyon bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi……. 220

4.6.3. SNCA geni ekspresyon bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi.. 222

4.6.4. LDLR geni ekspresyon bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi.. 225

4.7. Korelasyon Analizi Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi…… 227

5. TARTIŞMA…… 239

6. SONUÇ VE ÖNERİLER…… 255

Sayfa

KAYNAKLAR……... 257

EKLER…… 291

ÖZGEÇMİŞ……. 295

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 3.1. Primer antikorların dilüsyon oranları 102

Çizelge 3.2. Revers Transkripsiyon işlemi için cihaz protokolü……... 105

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan primer dizileri……..…… 106

Çizelge 3.4. RT-qPCR için kullanılan cihaz protokolü ……...…….. 107

Çizelge 4.1. Vücut ağırlıklarına ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri….…….. 110

Çizelge 4.2. Vücut ağırlıklarına ilişkin tekrarlı ölçümler ANOVA kapsamında Mauchly'nin küresellik testi……....…….. 110

Çizelge 4.3. Vücut ağırlıklarına ilişkin haftalara göre ikili karşılaştırmalar……..….. 111

Çizelge 4.4. Vücut ağırlıklarına ilişkin gruplara göre ikili karşılaştırmalar …...…..… 112

Çizelge 4.5. Vücut ağırlıklarına ilişkin çoklu karşılaştırmalar 112

Çizelge 4.6. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde PARK2 (PARKIN) immün işaretlemelerine ait ortalama değerler 128

Çizelge 4.7. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde PARK2 (PARKIN) immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri.. 129

Çizelge 4.8. Deney gruplarına göre beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK2 (PARKIN) immün işaretlemelerine ait medyan değerleri…..….... 129

Çizelge 4.9. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK2 (PARKIN) immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması……..…… 129

Çizelge 4.10. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK2 (PARKIN) immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması……. 130

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.11. Deney gruplarına göre orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK6 (PINK1) immün işaretlemelerine ait ortalama değerler……...……...… 137

Çizelge 4.12. Deney gruplarına göre orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK6 (PINK1) immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri……..……. 138

Çizelge 4.13. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK6 (PINK1) immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması..... 138

Çizelge 4.14. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK6 (PINK1) immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması 138

Çizelge 4.15. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde SNCA immün işaretlemelerine ait ortalama değerler…….……. 147

Çizelge 4.16. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde SNCA immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri…...…….…… 147

Çizelge 4.17. Deney gruplarına göre beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde SNCA immün işaretlemelerine ait medyan değerleri…… 147

Çizelge 4.18. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde SNCA immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması…..... 148

Çizelge 4.19. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde SNCA immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması...…. 148

Çizelge 4.20. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde LDLR immün işaretlemelerine ait ortalama değerler……...…….....…….. 157

Çizelge 4.21. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde LDLR immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri……..... 157

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.22. Deney gruplarına göre beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde LDLR immün işaretlemelerine ait medyan değerleri.....… 158

Çizelge 4.23. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde LDLR immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması..... 158

Çizelge 4.24. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde LDLR immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması..... 158

Çizelge 4.25. Deney gruplarına göre beyincik kesitlerinde fosfo-PARKIN immün işaretlemelerine ait ortalama değerler...……. 166

Çizelge 4.26. Deney gruplarına göre beyincik kesitlerinde fosfo-PARKIN immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri..... 167

Çizelge 4.27. Deney gruplarına göre orta beyin ve beyin korteksi kesitlerinde fosfo-PARKIN immün işaretlemelerine ait medyan değerleri…...……... 167

Çizelge 4.28. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-PARKIN immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması……..…… 167

Çizelge 4.29. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-PARKIN immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması…… 168

Çizelge 4.30. Deney gruplarına göre beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-PINK1 immün işaretlemelerine ait ortalama değerler…...……. 176

Çizelge 4.31. Deney gruplarına göre beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-PINK1 immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri...…... 177

Çizelge 4.32. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde fosfo-PINK1 immün işaretlemelerine ait medyan değerleri.……... 177

Çizelge 4.33. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-PINK1 immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması……...…… 177

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.34. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-PINK1 immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması……...……. 178

Çizelge 4.35. Deney gruplarına göre orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-SNCA immün işaretlemelerine ait ortalama değerler.. 186

Çizelge 4.36. Deney gruplarına göre orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-SNCA immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri……...…… 187

Çizelge 4.37. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-SNCA immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması.. 187

Çizelge 4.38. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-SNCA immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması……. 188

Çizelge 4.39. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde TH immün işaretlemelerine ait ortalama değerler……...……... 196

Çizelge 4.40. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde TH immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri……...……..... 196

Çizelge 4.41. Deney gruplarına göre beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde TH immün işaretlemelerine ait medyan değerleri….....…. 197

Çizelge 4.42. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde TH immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması...……. 197

Çizelge 4.43. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde TH immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması……. 197

Çizelge 4.44. Deney gruplarına göre serumdaki CHOL ve LDL ölçümlerine ait ortalama değerler……...…….. 207

Çizelge 4.45. Deney gruplarına göre serumdaki CHOL ve LDL ölçümlerine ait standart sapma değerleri……..... 207

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.46. Deney gruplarına göre serumdaki HDL ve GLU ölçümlerine ait medyan değerleri……..……..…….. 207

Çizelge 4.47. Serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU ölçümlerinin gruplar arası ikili karşılaştırması…… 208

Çizelge 4.48. Serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU ölçümlerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması……..... 208

Çizelge 4.49. Deney gruplarına göre serum, beyin ve beyincikteki Apo B ölçümlerine ait ortalama değerler…….……. 213

Çizelge 4.50. Deney gruplarına göre serum, beyin ve beyincikteki Apo B ölçümlerine ait standart sapma değerleri…….. 213

Çizelge 4.51. Deney gruplarına göre serum, beyin ve beyincikteki Apo B ölçümlerinin gruplar arası ikili karşılaştırması……. 214

Çizelge 4.52. Deney gruplarına göre serum, beyin ve beyincikteki Apo B ölçümlerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması……... 214

Çizelge 4.53. Deney gruplarına göre beyin ve beyincik dokularında PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyon seviyelerine ait medyan değerleri…….... 217

Çizelge 4.54. Beyin ve beyincik dokularında PARK2 (PARKIN) ekspresyonlarının gruplar arası ikili karşılaştırması……... 217

Çizelge 4.55. Beyin ve beyincik dokularında PARK2 (PARKIN) ekspresyonlarının gruplar arası çoklu karşılaştırması…… 218

Çizelge 4.56. Deney gruplarına göre beyin ve beyincik dokularında PARK6 (PINK1) geninin ekspresyon seviyelerine ait medyan değerleri.……..... 220

Çizelge 4.57. Beyin ve beyincik dokularında PARK6 (PINK1) ekspresyonlarının gruplar arası ikili karşılaştırması……...…… 221

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.58. Beyin ve beyincik dokularında PARK6 (PINK1) ekspresyonlarının gruplar arası çoklu karşılaştırması……..…….. 221

Çizelge 4.59. Deney gruplarına göre beyin ve beyincik dokularında SNCA geninin ekspresyon seviyelerine ait medyan değerleri……..…... 223

Çizelge 4.60. Beyin ve beyincik dokularında SNCA ekspresyonlarının gruplar arası ikili karşılaştırması…….. 223

Çizelge 4.61. Beyin ve beyincik dokularında SNCA ekspresyonlarının gruplar arası çoklu karşılaştırması……..... 223

Çizelge 4.62. Deney gruplarına göre beyin ve beyincik dokularında LDLR geninin ekspresyon seviyelerine ait medyan değerleri……...…….. 225

Çizelge 4.63. Beyin ve beyincik dokularında LDLR ekspresyonlarının gruplar arası ikili karşılaştırması……...…… 226

Çizelge 4.64. Beyin ve beyincik dokularında LDLR ekspresyonlarının gruplar arası çoklu karşılaştırması……..... 226

Çizelge 4.65. Orta beyin kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki Apo B seviyelerinin korelasyon analizi……..……...….. 228

Çizelge 4.66. Beyin korteksi kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki Apo B seviyelerinin korelasyon analizi……....……. 229

Çizelge 4.67. Beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki Apo B seviyelerinin korelasyon analizi……...…… 230

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.68. Beyin dokularında PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki Apo B seviyelerinin korelasyon analizi…… 231

Çizelge 4.69. Beyincik dokularında PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki Apo B seviyelerinin korelasyon analizi……...……. 232

Çizelge 4.70. Orta beyin kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi……...…… 233

Çizelge 4.71. Beyin korteksi kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi……...…… 234

Çizelge 4.72. Beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi…….……...….. 235

Çizelge 4.73. Beyin dokularındaki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi…….. 236

Çizelge 4.74. Beyincik dokularındaki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi…….. 237

Çizelge 4.75. Serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki Apo B seviyelerinin korelasyon analizi……...…….. 238

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 3.1. Standart eğri 104

Şekil 4.1. Haftalara ve gruplara göre kobay ağırlıkları…….... 113

Şekil 4.2. Gruplara göre orta beyin kesitlerinde PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR immün işaretlemeleri 156

Şekil 4.3. Gruplara göre orta beyin kesitlerinde fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri 156

Şekil 4.4. Gruplara göre beyin korteksi kesitlerinde PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR immün işaretlemeleri 175

Şekil 4.5. Gruplara göre beyin korteksi kesitlerinde fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri 175

Şekil 4.6. Gruplara göre beyincik kesitlerinde PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR immün işaretlemeleri..... 205

Şekil 4.7. Gruplara göre beyincik kesitlerinde fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri 206

Şekil 4.8. Gruplara göre serumda ölçülen CHOL seviyeleri 209

Şekil 4.9. Gruplara göre serumda ölçülen LDL seviyeleri 210

Şekil 4.10. Gruplara göre serumda ölçülen HDL seviyeleri 211

Şekil 4.11. Gruplara göre serumda ölçülen GLU seviyeleri 212

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.12. Gruplara göre serumda belirlenen Apo B seviyeleri 215

Şekil 4.13. Gruplara göre beyin dokusunda belirlenen Apo B seviyeleri..... 215

Şekil 4.14. Gruplara göre beyincik dokusunda belirlenen Apo B seviyeleri..... 216

Şekil 4.15. Gruplara göre beyin dokusunda PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyon seviyeleri 219

Şekil 4.16. Gruplara göre beyincik dokusunda PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyon seviyeleri 219

Şekil 4.17. Gruplara göre beyin dokusunda PARK6 (PINK1) geninin ekspresyon seviyeleri 222

Şekil 4.18. Gruplara göre beyincik dokusunda PARK6 (PINK1) geninin ekspresyon seviyeleri 222

Şekil 4.19. Gruplara göre beyin dokusunda SNCA geninin ekspresyon seviyeleri..... 224

Şekil 4.20. Gruplara göre beyincik dokusunda SNCA geninin ekspresyon seviyeleri... 224

Şekil 4.21. Gruplara göre beyin dokusunda LDLR geninin ekspresyon seviyeleri..... 227

Şekil 4.22. Gruplara göre beyincik dokusunda LDLR geni ekspresyon seviyeleri..... 227

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 4.1. CF grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri, sinir hücre uzantıları, yoğun boyanmış sinir hücreleri, nörogliya hücresi, perinöronal vakuolizasyon ve kan damarı (H&E, x200)..... 115

Resim 4.2. EF grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücre uzantıları, yoğun boyanmış sinir hücreleri, nörogliya hücresi, perinöronal vakuolizasyon ve kan damarı (H&E, x200)..... 115

Resim 4.3. CM grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri, yoğun boyanmış sinir hücreleri, nörogliya hücresi, perinöronal vakuolizasyon ve kan damarı (H&E, x200).....…..……..... 116

Resim 4.4. EM grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri, yoğun boyanmış sinir hücreleri, nörogliya hücresi, perinöronal vakuolizasyon ve kan damarı (H&E, x200)…….……. 116

Resim 4.5. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri, sinir hücre uzantıları, yoğun boyanmış sinir hücreleri, nörogliya hücresi, perinöronal vakuolizasyon ve kan damarı (H&E, x200)…….….. 117

Resim 4.6. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri, sinir hücre uzantıları, yoğun boyanmış sinir hücreleri, nörogliya hücresi, perinöronal vakuolizasyon ve kan damarı (H&E, x200)..... 117

Resim 4.7. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri, sinir hücre uzantıları, yoğun boyanmış sinir hücreleri, nörogliya hücresi, perinöronal vakuolizasyon ve kan damarı (H&E, x200)…..……..... 118

Resim 4.8. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri, sinir hücre uzantıları, yoğun boyanmış sinir hücreleri, nörogliya hücresi, perinöronal vakuolizasyon, nükleer şişme ve kan damarı (H&E, x200)…...……...…... 118

Resim 4.9. CF grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri, Purkinje hücre uzantısı, yoğun boyanmış Purkinje hücreleri ve kan damarı (H&E, x200).. 119

Resim **Sayfa**

Resim 4.10. EF grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri, yoğun boyanmış Purkinje hücreleri ve kan damarı (H&E, x200)..... 119

Resim 4.11. CM grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri ve kan damarı (H&E, x200)…..……..……... 120

Resim 4.12. EM grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri, Purkinje hücre uzantıları, yoğun boyanmış Purkinje hücreleri ve kan damarı (H&E, x200)…...……..……...…….. 120

Resim 4.13. CF grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (Nötral red, x200)...……..…..……. 122

Resim 4.14. EF grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (Nötral red, x200)……..…….. 122

Resim 4.15. CM grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (Nötral red, x200)...……..……...… 123

Resim 4.16. EM grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (Nötral red, x200)...……..…..…… 123

Resim 4.17. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (Nötral red, x200)..... 124

Resim 4.18. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (Nötral red, x200)..... 124

Resim 4.19. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (Nötral red, x200)……..……. 125

Resim 4.20. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (Nötral red, x200)…….……. 125

Resim 4.21. CF grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri ve yoğun boyanmış Purkinje hücreleri (Nötral red, x200)……..……..… 126

Resim **Sayfa**

Resim 4.22. EF grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri ve yoğun boyanmış Purkinje hücreleri (Nötral red, x200)..... 126

Resim 4.23. CM grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri ve yoğun boyanmış Purkinje hücreleri (Nötral red, x200)..... 127

Resim 4.24. EM grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri ve yoğun boyanmış Purkinje hücreleri (Nötral red, x200)..... 127

Resim 4.25. CF grubuna ait orta beyin kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..... 131

Resim 4.26. EF grubuna ait orta beyin kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..... 131

Resim 4.27. CM grubuna ait orta beyin kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..... 132

Resim 4.28. EM grubuna ait orta beyin kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..... 132

Resim 4.29. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..... 133

Resim 4.30. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..... 133

Resim 4.31. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..... 134

Resim 4.32. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..... 134

Resim 4.33. CF grubuna ait beyincik kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)..... 135

Resim **Sayfa**

Resim 4.34. EF grubuna ait beyincik kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)..…….…..….. 135

Resim 4.35. CM grubuna ait beyincik kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)..…….……... 136

Resim 4.36. EM grubuna ait beyincik kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)..……. 136

Resim 4.37. CF grubuna ait orta beyin kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..…….……. 140

Resim 4.38. EF grubuna ait orta beyin kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..……..……..…….. 141

Resim 4.39. CM grubuna ait orta beyin kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400).……..……. 141

Resim 4.40. EM grubuna ait orta beyin kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..……..…...…. 142

Resim 4.41. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..... 142

Resim 4.42. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400).…….…... 143

Resim 4.43. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..…….……..…….. 143

Resim 4.44. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..…….…..…..... 144

Resim 4.45. CF grubuna ait beyincik kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400).……..…….…. 144

Resim **Sayfa**

Resim 4.46. EF grubuna ait beyincik kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)…….……..…..... 145

Resim 4.47. CM grubuna ait beyincik kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..…….……...…... 145

Resim 4.48. EM grubuna ait beyincik kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..…….…...……... 146

Resim 4.49. CF grubuna ait orta beyin kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (küçük resim X400, büyük resim X100)……..... 150

Resim 4.50. EF grubuna ait orta beyin kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (küçük resim X400, büyük resim X100)……..…. 150

Resim 4.51. CM grubuna ait orta beyin kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (küçük resim X400, büyük resim X100)……..... 151

Resim 4.52. EM grubuna ait orta beyin kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (küçük resim X400, büyük resim X100)……...…..... 151

Resim 4.53. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……...……. 152

Resim 4.54. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)…….…….... 152

Resim 4.55. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……...……. 153

Resim 4.56. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……...…...……. 153

Resim 4.57. CF grubuna ait beyincik kesitinde SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)…….……..…….... 154

Resim **Sayfa**

Resim 4.58. EF grubuna ait beyincik kesitinde SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)…….…….... 154

Resim 4.59. CM grubuna ait beyincik kesitinde SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..…… 155

Resim 4.60. EM grubuna ait beyincik kesitinde SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……...…….…….…… 155

Resim 4.61. CF grubuna ait orta beyin kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……...……..... 160

Resim 4.62. EF grubuna ait orta beyin kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..…..…..…….. 160

Resim 4.63. CM grubuna ait orta beyin kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……...……...……..... 161

Resim 4.64. EM grubuna ait orta beyin kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……....…... 161

Resim 4.65. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..……..... 162

Resim 4.66. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……...……. 162

Resim 4.67. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……...……..…..…… 163

Resim 4.68. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..…..……... 163

Resim 4.69. CF grubuna ait beyincik kesitinde LDLR immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)…..…….……..…..……... 164

Resim **Sayfa**

Resim 4.70. EF grubuna ait beyincik kesitinde LDLR immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..……..……. 164

Resim 4.71. CM grubuna ait beyincik kesitinde LDLR immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..…..……. 165

Resim 4.72. EM grubuna ait beyincik kesitinde LDLR immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..…..……. 165

Resim 4.73. CF grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..……..……... 169

Resim 4.74. EF grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..…..……. 169

Resim 4.75. CM grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..……... 170

Resim 4.76. EM grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)…….……..... 170

Resim 4.77. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..……... 171

Resim 4.78. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..……... 171

Resim 4.79. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..…..…... 172

Resim 4.80. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..... 172

Resim 4.81. CF grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)…. 173

Resim **Sayfa**

Resim 4.82. EF grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..……...…….. 173

Resim 4.83. CM grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)……...…….….. 174

Resim 4.84. EM grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)…….……....…. 174

Resim 4.85. CF grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)…….....…….. 180

Resim 4.86. EF grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……...…..... 180

Resim 4.87. CM grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)…….…….... 181

Resim 4.88. EM grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..……... 181

Resim 4.89. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)..... 182

Resim 4.90. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..……..... 182

Resim 4.91. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..……...….... 183

Resim 4.92. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……. 183

Resim 4.93. CF grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……...……... 184

Resim **Sayfa**

Resim 4.94. EF grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……...……...… 184

Resim 4.95. CM grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..……. 185

Resim 4.96. EM grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400) 185

Resim 4.97. CF grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (küçük resim X400, büyük resim X100)……. 190

Resim 4.98. EF grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (küçük resim X400, büyük resim X100)...…….……. 190

Resim 4.99. CM grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (küçük resim X400, büyük resim X100)……...……. 191

Resim 4.100. EM grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (küçük resim X400, büyük resim X100)…….…….. 191

Resim 4.101. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..…..... 192

Resim 4.102. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……...…..... 192

Resim 4.103. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)…….…….. 193

Resim 4.104. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..…...…..... 193

Resim 4.105. CF grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..……... 194

Resim **Sayfa**

Resim 4.106. EF grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)…….……..... 194

Resim 4.107. CM grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..…...…... 195

Resim 4.108. EM grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)…….……..……..... 195

Resim 4.109. CF grubuna ait orta beyin kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (küçük resim X400, büyük resim X100)…….…..... 199

Resim 4.110. EF grubuna ait orta beyin kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (küçük resim X400, büyük resim X100)…….…….... 200

Resim 4.111. CM grubuna ait orta beyin kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (küçük resim X400, büyük resim X100)…..…..…..……. 200

Resim 4.112. EM grubuna ait orta beyin kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (küçük resim X400, büyük resim X100)……..…… 201

Resim 4.113. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..…..…….. 201

Resim 4.114. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……..…..... 202

Resim 4.115. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)…….……..……... 202

Resim 4.116. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (X400)……...…..……. 203

Resim 4.117. CF grubuna ait beyincik kesitinde TH immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..…….. 203

Resim **Sayfa**

Resim 4.118. EF grubuna ait beyincik kesitinde TH immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..…… 204

Resim 4.119. CM grubuna ait beyincik kesitinde TH immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)…….……..…...….. 204

Resim 4.120. EM grubuna ait beyincik kesitinde TH immünpozitif olan Purkinje hücreleri (X400)……..…...…... 205

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
µ	Mikron
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
ip	İntra peritoneal
kg	Kilogram
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
ng	Nanogram
sn	Saniye
L	Litre

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
5-HT	5-hidroksitriptamin, Serotonin
6-OHDA	6-hidroksidopamin
24-HC	24-hidroksikolesterol
27-HC	27-hidroksikolesterol
α-syn	α-Sinüklein
Aβ	Amiloid beta
ABCA1	ATP-bağlayıcı kaset taşıyıcı A1
ACh	Asetilkolin

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
AChE	Asetilkolinesteraz
aER	Granülsüz endoplazmik retikulum
ANOVA	Tek yönlü varyans analizi
ANR	Anterior nöral sırt
Apo A-I	Apolipoprotein A-I
Apo A-IV	Apolipoprotein A-IV
Apo A-V	Apolipoprotein A-V
Apo B	Apolipoprotein B
Apo B-48	Apolipoprotein B-48
Apo B-100	Apolipoprotein B-100
apobec1	Apo B mRNA düzenleme enzimi
Apo C	Apolipoprotein C
Apo D	Apolipoprotein D
Apo E	Apolipoprotein E
Apo H	Apolipoprotein H
Apo J	Apolipoprotein J
Apo M	Apolipoprotein M
Asp	Aspartat
BOS	Beyin-omurilik sıvısı
C^{6666}	Sitidin
CBD	Kortikobazal dejenerasyon
CCK	Kolesistokinin
cDNA	Komplementer DNA
CETP	Kolesteril ester transfer proteini
CHOL	Kolesterol
COMT	O-metiltransferaz
DA	Dopamin
ELISA	Enzim bağlı immünosorbent analiz
EN1	Engrailed 1
EN2	Engrailed 2

Kısaltmalar	Açıklamalar
EPI	Epinefrin, adrenalin
FDB	Ailesel defektif apo B
FGF8	Fibroblast büyüme faktörü 8
GABA	γ-Aminobütirik asit
GBA	Glukoserebrosidaz
gER	Granüllü endoplazmik retikulum
GFAP	Glial fibriler asidik proteinden
Glu	Glutamat
GLU	Glukoz
Glut-1	Glukoz taşıyıcı-1
Gly	Glisin
GMP	Granülosit/monosit progenitör
H&E	Hematoksilen-eozin
HAMA	Hamilton anksiyete derecelendirme ölçeği
HAMD	Hamilton depresyon derecelendirme ölçeği
HCL	Hidroklorik asit
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HLA	İnsan lökosit antijeni
HTGL	Hepatik trigliserit lipaz
IL-1α	İnterlökin-1α
IL-1β	İnterlökin-1β
KBB	Kan-beyin bariyeri
LCAT	Lesitin-kolesterol asiltransferaz
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LDLR	LDL reseptör
l-dopa	Levodopa
L-DOPA	L-3,4-dihidroksifenilalanin
LPL	Lipoprotein lipaz
LRP	LDLR ile ilişkili proteine
LRP1	LDL reseptörü ile ilişkili protein 1

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
LRRK2	Lösin bakımından zengin tekrar kinaz 2
MAO	Monoamin oksidaz
MOG	Miyelin oligodendrosit glikoproteini
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
mRNA	Haberci RNA
MSA	Multiple sistem atrofisi
MSS	Merkezi sinir sistemi
NE	Norepinefrin
NO	Nitrik oksit
OMgp	Oligodendrosit miyelin glikoproteini
OSS	Otonom sinir sistemi
PARK2, PARKIN	Parkin RING alanı içeren E3 ubikuitin protein ligaz
PARK6, PINK1	Fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN) tarafından indüklenen kinaz 1
PARL	Presenilin ilişkili rhomboid benzeri protein
Pgp, ABCB1	P-glikoprotein
PLP	proteolipid protein
PLTP	fosfolipid transfer proteini
PSP	Progresif supranükleer palsi
PSS	Periferik sinir sistemi
ROS	Reaktif oksijen türleri
RT-qPCR	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
SHH	Sonic hedgehog
SNCA	Sinüklein alfa, α-Sinüklein
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
SR-BI	Çöpçü reseptörü sınıf B tip I
TEM	Transmisyon elektron mikroskobu
TG	Trigliserit
TH	Tirozin hidroksilaz
TNF-α	Tümör nekroz faktörü-α

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
UCH-L1	Ubikuitin karboksilterminal hidrolaz L1
UPS	Ubikuitin-proteazom sistemi
VIP	Vazoaktif intestinal peptidi
VLDL	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
VMAT	Veziküler monoamin taşıyıcı

1. GİRİŞ

Parkinson hastalığı, substantia nigra bölgesinde bulunan dopamin salgılayan dopaminerjik nöronların kaybı ve Lewy cisimcikleri adı verilen çoğunluğu α-sinükleinden (α-syn) oluşan birikimler ile karakterize olan ilerleyici nörodejeneratif bir bozukluktur [1, 2]. Parkinson hastalığı, başta substantia nigra olmak üzere beyin sapının diğer pigmentli nöronlarını da etkileyerek parkinsonizm olgularının hemen hemen %80'ini oluşturur ve başlıca klinik belirtileri rijidite, istirahat tremoru, postüral refleks bozukluğu ve bradikinezidir [3]. Parkinson hastalığının belirtilerinin ortaya çıkması için substantia nigra bölgesindeki nöronların yaklaşık olarak %60-80'inin kaybolması gerekmektedir [3]. Bu durum Parkinson hastalığının, belirtiler ortaya çıkmadan çok daha önce başladığına işaret etmektedir. Parkinson hastalığı ile ilgili olarak şu anda yalnızca semptomatik tedavi mevcuttur ve bu hastalığın patogenezinde farklı birçok mekanizma rol oynadığından, dejeneratif süreci duraklatacak veya geri döndürecek nöroprotektif tedaviler henüz deneme aşamasındadır [4]. Yaşlanma, genetik yatkınlık ve çevresel faktörler gibi risk faktörlerinin tümü, patojenik sürecin başlangıcında rol oynar; ancak bunların nöronal kayba nasıl neden oldukları bilinmemektedir [4]. Mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres, değiştirilmiş protein işleme ve inflamasyon dahil olmak üzere nigral dopaminerjik hücre ölümüne katkıda bulunan mekanizmaların anlaşılmasında büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Bununla birlikte, non-dopaminerjik beyin bölgelerinde nöron kaybından aynı süreçlerin sorumlu olup olmadığı bilinmemektedir [4].

Lipitler, suda çözünmeyen moleküller olarak kanda lipoprotein partikülleri adı verilen proteine bağlı yapılar olarak taşınırlar. Bunlar; gömülü apolipoproteinler içeren tek bir hidrofilik fosfolipid tabakası ile çevrelenen, trigliseritler ve kolesterol esterlerinden oluşan hidrofobik bir çekirdekten oluşur. Lipoprotein partikülleri yoğunluklarına, büyüklüklerine, lipid ve apolipoprotein içeriklerine göre farklı gruplara ayrılır. Apolipoproteinler, lipoprotein parçacıklarının temel yapısal molekülleridir ve çok sayıda metabolik enzimi düzenleyip lipoprotein reseptörleri ile moleküler etkileşimlere aracılık ederek lipid metabolizmasında önemli rol oynarlar [5, 6]. Apolipoproteinler, her biri farklı işlevlere sahip A, B, C, D, E, L, F, H, M, N ve R alt ailelerini içerir [7]. Apolipoprotein B (Apo B); şilomikron, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), orta yoğunluklu lipoprotein (IDL) ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)'in bir bileşenidir [8, 9]. Genellikle karaciğer ve ince bağırsakta üretilen apo B'nin küçük bir kısmının kalp dokusu tarafından

sentezlenebileceği bildirilmiştir [10]. Şilomikronların ana protein bileşeni apolipoprotein B-48 (apo B-48)'dir. Apo B-48, apolipoprotein B-100 (apo B-100)'ün kesik varyantıdır ve apo B mRNA düzenleme enzimi (apobec1) tarafından üretilir [5, 11]. LDL partikülleri esas olarak kolesterol esterleri ve apo B-100 içerir [6, 11].

Beyni besleyen kan damarları da dahil olmak üzere tüm damar sisteminde aterosklerotik değişiklikler meydana gelebilir. Beyin kılcal damarlarının yapısı ve işlevi, düzgün sinirsel işlev için gerekli olan ve sıkı bir şekilde kontrol edilen bir mikro-çevreyi sürdürme gereksinimlerine göre uyarlanmıştır. Dolaşan kan ve nöral doku arasındaki arayüz, astrositlerin ayaksı uzantıları ve beyin kılcal damarlarını çevreleyen perisitler ile yakından etkileşime giren endotelyal hücreler tarafından oluşturulan kan-beyin bariyeri (KBB)dir. Beyin, besin kaynağını KBB yoluyla alırken, aynı zamanda KBB beyni toksik bileşiklerden ve patojenlerden korur. Kanda taşınan gazlar (oksijen ve karbon dioksit) ve ayrıca yağda çözünen bileşikler, KBB'den pasif olarak yayılır. Buna karşılık, kan ve beyin arasındaki suda çözünür moleküllerin değişimi, KBB tarafından dinamik ve aktif olarak düzenlenir [12]. KBB'nin temel hücresel bileşenleri endotel hücrelerdir ve fenestra eksikliği, düşük transsitoz oranı, sıkı bağlantıların ve seçici taşıyıcıların varlığı ile karakterize edilirler. Sıkı bağlantılar, KBB'nin en karakteristik özelliğini temsil eder. Bunlar esas olarak okludin, claudin-5 ve bağlantı adezyon molekülleri olmak üzere transmembran proteinlerini içeren ve endotel hücreleri arasındaki yarığın kaplandığı temas noktalarıdır [13].

KBB'nin hücresel bileşenleri, sitokinler aracılığıyla birbiriyle iletişim kurar. Her hücre tipinin spesifik bir sitokin salgılama modeli vardır ve hepsi pro ve anti inflamatuar sitokinler üretme yeteneğine sahiptir [14]. Proinflamatuar sitokin salgılanmasına (örneğin, tümör nekroz faktörü-α (TNF-α) veya interlökin-6 (IL-6)) doğru bir kayma olduğu zaman KBB geçirgenliğinde bir artış gözlemlenebilir [15]. KBB fonksiyonel hasarı; mikro kanamaları, lökosit infiltrasyonunu ve kandan türetilen makromoleküllerin (fibrinojen, trombin, albümin, IgG, hemosiderin) beyne girişini, bozulmuş glukoz taşınmasını ve P-glikoprotein (Pgp) fonksiyonunu içerebilir. KBB disfonksiyonuna genellikle bozulmuş sıkı bağlantılar, bazal membran değişiklikleri ve perisit kaybı gibi morfolojik değişiklikler eşlik eder. Yapısı bozulmuş bir KBB'yi düşündüren çoğu işaret, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, amyotrofik lateral skleroz, multipl skleroz ve HIV ile ilişkili demans dahil olmak üzere nörodejeneratif hastalıklarda gözlenir [16].

İnflamatuar süreçler; yaralanmalar, enfeksiyonlar, iskemi ve hiperglisemik ve hiperlipidemik durumlar gibi çeşitli metabolik bozuklukların dahil olduğu bir dizi faktör tarafından indüklenebilir [17-19]. Dislipidemi, intrakraniyal ateroskleroz için bilinen bir risk faktörüdür ve KBB bozukluğu olan Alzheimer hastalarının %75'inde yaygındır [20-22]. Beyin endotel hücre fonksiyonları, hiperlipidemik koşullarda oluşan araşidonik asit metabolitlerinin artan üretiminden etkilenebilir. Bu metabolitlerin, sıkı bağlantı proteinlerinin serin/treonin fosforilasyonunu modüle ederek bariyer işlev bozukluğuna yol açtıkları bildirilmektedir [23]. Trigliserit açısından zengin lipoproteinlerin lipoliz ürünleri ayrıca hücreler arası bağlantıların bozulması yoluyla KBB geçirgenliğini artırabilir, bu da apoptozu indükler ve lipid yığın morfolojisini ve bileşimini etkiler [24, 25]. Reaktif oksijen türleri, trigliseritten zengin lipoproteinlerin neden olduğu endotel hücre hasarına da dahil olabilir [25, 26]. İnsanlarda serum trigliserit seviyeleri, toplam kolesterol seviyelerinden bağımsız olarak protein oksidasyon seviyesi ile ilişkilidir [27]. Farelerde gerçekleştirilen bir *in vivo* çalışmada, trigliseritten zengin lipoproteinlerin lipoliz ürünlerinin KBB transfer katsayısını geçici olarak arttırdığı doğrulanmıştır. Serum lipidlerinin, bilişsel işlev bozukluğunun gelişiminde rol oynayabilecek olan nörovasküler hasarı indükleyebileceği düşünülmektedir [28].

KBB dislipidemiye bağlı geçirgenlik değişikliklerinin endotel taşıma sistemlerindeki değişikliklerden de kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, beyin endotel hücrelerinde glukoz taşıyıcı-1 (Glut-1) ekspresyonunun, yüksek yağlı bir diyetle beslenen farelerde geçici olarak aşağı regüle edildiği ve bunu inflamatuar yolaklar yoluyla bilişsel rahatsızlıklara yol açan telafi edici Glut-1 ekspresyonunun yukarı regülasyonunun izlediği rapor edilmiştir [29]. İnflamatuar koşullar ayrıca Pgp ve LDL reseptörü ile ilişkili protein 1 (LRP1) dahil olmak üzere KBB taşıyıcılarının ekspresyonunu ve işlevini modüle eder [30]. LRP1 veya Pgp seviyelerinde ya da her ikisinde bir azalma, beyinden amiloid beta (Aβ) klirensinin bozulmasına ve farelerde bilişsel eksikliklere yol açar [31, 32]. Bu bulgu, Alzheimer veya Parkinson hastalığı olan hastaların beyninde Pgp fonksiyonunda azalma olduğunu gösteren verapamil-PET çalışmaları ile uyumludur [16]. Endotel hücrelerinin yanı sıra perisitler de KBB'nin dislipidemi kaynaklı geçirgenlik değişikliklerine katılabilir. Hiperlipideminin farelerde vasküler endotelyal büyüme faktörünün perisitler üzerindeki etkilerini önlediği, beyin kılcal damarlarının perisit kaplamasında bir azalmaya ve KBB geçirgenliğinde bir artışa neden olduğu bildirilmiştir [33].

Uzun süreli yüksek diyet kolesterol alımı, beyindeki damar dallarının yoğunluğunu azaltır [34]. KBB kolesterolün beyne girişini engellese de hiperkolesterolemiye bağlı patolojik değişiklikler gözlemlenebilir. Bununla birlikte, 24-hidroksikolesterol (24-HC) ve 27-hidroksikolesterol (27-HC) gibi oksitlenmiş kolesterol metabolitleri KBB'yi geçebilir ve son veriler, bunların Alzheimer hastalığı gelişimine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir [35]. Ayrıca, sağlıklı kontrollere kıyasla Alzheimer hastalarında anlamlı olarak artmış serum LDL kolesterol seviyeleri ve azalmış yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol seviyeleri ölçülürken, gruplar arasında toplam kolesterol seviyelerinde sadece hafif, anlamlı olmayan bir farkın gözlendiği bildirilmiştir [36].

Dolaşımdaki apolipoprotein bileşiminin düzensizliği, bilişsel gerilemenin erken bir işareti olabilir. Hafif kognitif bozukluğu olan hastalarda, hipokampus hacmi ile negatif korelasyon gösteren ve daha sonra başlayan kognitif düşüşün insidansı ile pozitif korelasyon gösteren apo B/apolipoprotein A-I (apo A-I) oranının arttığı rapor edilmiştir [37].

Lipid metabolizmasındaki değişimler ve mitokondriyal disfonksiyon Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörodejenatif hastalıkların patogenezinde rol oynamaktadır. Nörodejenaratif süreçlerle bu parametreler arasında bir bağlantı olup olmadığı henüz net değildir. Ayrıca literatürde lipid metabolizması ve Parkinson hastalığı arasındaki ilişkinin incelendiği çalışma sayısı hem az hem de elde edilmiş veriler açısından yetersiz ve tutarsızdır. Az sayıdaki bu çalışmaların bir kısmı insan çalışması, diğer kısmı model sistemlerin ya da transgenik deneklerin kullanıldığı hayvan çalışmalarıdır. Transgenik hayvanların kullanıldığı çalışmalarda spesifik olarak Parkinson hastalığının patogenezi yerine genel olarak nörodejenaratif hastalıkların patogenezine odaklanılmıştır. Özellikle transgenik hayvanlarla yapılan çalışmalar Apo B proteininin yüksek miktardaki seviyesinin sadece ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklarla değil aynı zamanda nörodejeneratif değişikliklerle de ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle Parkinson hastalığında önemli bir rolü bulunan parkin RING alanı içeren E3 ubikuitin protein ligaz (PARK2, PARKIN), fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN) tarafından indüklenen kinaz 1 (PARK6, PINK1) ve sinüklein alfa (α-sinüklein, SNCA) proteinleri ile lipid metabolizmasında yer alan Apo B proteini arasındaki olası korelasyonun araştırılması çalışmamızın amacını oluşturmaktadır. Bu amaç doğrultusunda Apo B reseptörü olan LDL reseptör (LDLR) geninin ekspresyonu ile PARKIN (PARK2), PINK1 (PARK6) ve SNCA genlerinin

ekspresyonları gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) yöntemi ile analiz edildi. Ayrıca LDLR, PARKIN (PARK2), PINK1 (PARK6), SNCA, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve tirozin hidroksilaz protein yoğunlukları immünohistokimyasal işaretleme ile gösterildi. Apo B miktarının serum, beyin ve beyincik dokularında belirlenebilmesi için enzim bağlı immünosorbent analiz (ELISA) yöntemi kullanıldı. Serum kolesterol (CHOL), glukoz (GLU), HDL ve LDL seviyeleri ticari kit kullanılarak belirlendi. Sonuç olarak çalışmamızda lipid metabolizmasında yer alan Apo B proteini ile mitokondriyal yapım/yıkım olayı arasındaki ilişki değerlendirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Beyin Gelişimi

2.1.1. Notokord oluşumu

Embriyonik dönemin yaklaşık olarak 16. gününde bazı mezenkimal hücreler primitif çizgi boyunca göç eder ve sonuçta mezodermal hücrelerin kaderleri belirlenir. Bu hücreler primitif düğüm ve çukurdan kraniale doğru göç ederek medyan bir hücresel kordon olan notokordu oluşturur. Kısa bir süre sonra bir lümen, yani notokordal kanal meydana gelir. Notokord, prekordal plağa ulaşana kadar ektoderm ve endoderm arasında kraniyal olarak büyür [38]. Notokordun rostralinde yer alan prekordal mezoderm, nöral krest kökenli mezenkimal bir popülasyondur. Ağız boşluğunun gelecekteki yerinde bulunan orofaringeal membranın endodermine farklanacak olan prekordal plak, ön beyin ve gözler de dahil olmak üzere kraniyal yapıların gelişimini kontrol etmek için bir sinyal merkezi olarak hizmet eder. Primitif çizgi ve notokordtan gelen mezenkimal hücreler, embriyonik diskin kenarlarına ulaşana kadar ektoderm ve endoderm arasındaki diğer mezodermal hücreler arasında lateral ve kraniyal olarak göç eder [38].

2.1.1. Nörülasyon

Nöral plak, nöral kıvrımlar ve nöral kıvrımların kapanmasıyla oluşan nöral tüp ile ilgili süreçler nörülasyonu oluşturur. Kaudal nöroporun kapanmasıyla nörülasyon embriyonik dönemin 4. haftasının sonunda tamamlanır [38].

<u>Nöral plak ve nöral tüp oluşumu</u>

Notokord gelişirken, üstte yer alan ve orta hatta ya da bitişiğinde bulunan embriyonik ektodermin kalınlaşmasını, kalınlaşmış epitel hücrelerinden meydana gelen nöral plağın oluşmasını indükler. Plağın nöroektodermi merkezi sinir sistemi (MSS)'ni meydana getirir. Nöroektoderm, retina gibi çeşitli yapıları da meydana getirir. Başlangıçta altta bulunan notokordun uzunluğuna karşılık gelen nöral plak, primitif düğümün rostralinde ve notokord ile ona bitişik mezodermin dorsalinde görülür. Notokord uzadıkça, nöral plak genişler ve kraniyal olarak orofaringeal membrana kadar ilerler. Sonunda nöral plak

notokordun ötesine geçer [38].

Embriyonik dönemin yaklaşık olarak 18. günde nöral plak merkezi ekseni boyunca invajine olur ve medyanda uzunlamasına yerleşim gösteren, her iki tarafında da nöral kıvrımlar bulunan nöral oluğu oluşturur. Nöral kıvrımlar, özellikle embriyonun kranial ucunda belirginleşir ve bu durum beyin gelişiminin ilk belirtileridir [38]. Nöral kıvrımların birlikte hareket etmeye ve kaynaşmaya başladığı üçüncü haftanın sonunda nöral plak, beyin veziküllerinin ve omuriliğin primordiyumu olan nöral tüpe dönüşür. Kısa bir süre sonra nöral kıvrımların birleşmesiyle birlikte nöral tüp yüzey ektoderminden ayrılır. Epitelden mezenkime geçiş yapan nöral krest hücreleri, nöral kıvrımlar birleştikçe göç ederken yüzey ektoderminin serbest kenarları kaynaşır ve böylece bu tabaka nöral tüp ve embriyo arkasının üzerinde sürekli hale gelir. Sonra yüzey ektodermi epidermise farklılaşır ve dördüncü haftanın sonunda nörülasyon tamamlanır [38].

Nöral krest hücreleri

Nöral kıvrımlar birleşip nöral tüpü oluşturur ve her bir nöral kıvrımın iç kenarında bulunan bazı nöroektodermal hücreler, komşu hücrelerle bağlantılarını ve epitelyal yakınlıklarını kaybeder. Nöral tüp yüzey ektoderminden ayrılırken, nöral krest hücreleri nöral tüp ile üstteki yüzey ektodermi arasında düzensiz bir kitle olan nöral kresti oluşturur. Daha sonra nöral tüpün dorsolateral taraflarına kayarak sağ ve sol parçalara ayrılan nöral krest, bu alanlarda kraniyal sinirlerin duyusal gangliyonlarını oluşturur. Sonra nöral krest hücreleri, somitlere doğru hareket eder [38]. Nöral krest hücrelerinin tanımlanması zordur; ancak özel tekniklerle bu hücrelerin geniş bir alana yayıldıkları ve genelde önceden tanımlanmış yollar boyunca ilerledikleri ortaya konmuştur [38].

Nöral krest hücreleri dorsal kök gangliyonlarını ve otonom sinir sistemi gangliyonlarını oluşturur. V, VII, IX ve X. kraniyal sinir gangliyonları da kısmen nöral krest hücrelerinden meydana gelmiştir. Ganglion hücrelerinin yanı sıra, periferik sinirlerin nörolemma kılıfları ile leptomeninks, araknoid mater ve pia mater nöral krest hücrelerinden türemiştir. Bu hücreler ayrıca suprarenal medullanın, pigment hücrelerinin ve diğer birçok organın oluşumuna katkıda bulunur [38].

Laboratuvar çalışmaları, nöral plağın sınırları ile epitelyal-mezenkimal dönüşümün

gerçekleşeceği bölgeleri belirlemek için hem yüzey epiteli içinde hem de nöral plakla onun altında bulunan mezoderm arasındaki hücre etkileşimlerinin gerekli olduğunu göstermektedir [38]. İnsanlardaki birçok hastalığın, nöral krest hücrelerinin kusurlu göçü ve/veya farklılaşmasından kaynaklandığı bilinmektedir [38].

2.1.2. Nöral tüpün histolojik farklanması

Oksipitoservikal nöral kıvrımların birleşmesinden hemen sonra rombensefalik bölgede, nöral tüpün sitodiferansiyasyonu başlar ve bu seviyelerde oluk kapandıkça nöral tüpü oluşturmak için kraniyal ve kaudal olarak ilerler [39]. MSS'nin çoğu hücre tipinin (nöronlar, bazı glial hücreler, omuriliğin merkezi kanalını ve beynin ventriküllerini kaplayan ependimal hücreler) öncülleri, nöral kanalı çevreleyen nöroepitelyal hücre tabakasında çoğalarak üretilir [39]. Erken nöral tüpün duvarının çoğunu kapladıklarında genellikle radyal hücreler olarak adlandırılan erken nöroepitelyal hücreler, bazı glial özellikleri paylaşır ve bu hücreler hem nöronal hem de glial hücre progenitörlerini oluşturmak için proliferasyona uğrar. Çoğalan nöroepitelyal hücreler farklılaşan nöral tüpün ventriküler tabakası içinde bulunur ve lüminal yüzeyde mitoz meydana gelir. Ventriküler tabakada meydana gelen ilk hücre dalgası postmitotik olan genç nöronlardan oluşur ve bunlar ventriküler tabakanın dışında, hücre gövdeleri içeren, ikinci bir tabaka olan manto tabakasını oluşturmak üzere periferik olarak göç eder. Nöron içeren bu tabaka, MSS'nin gri maddesine dönüşür [39]. Manto tabakasındaki nöronlardan filizlenen aksonlar, periferik olarak büyüyerek nöronal hücre gövdesi içermeyen ve MSS'nin ak maddesi haline gelecek, üçüncü bir tabaka olan marjinal tabakayı oluşturur. Birçok aksonun etrafını saran ve lipid içeren miyelin kılıflardan kaynaklanan beyazımsı renk nedeniyle ak madde şeklinde isimlendirme yapılmaktadır [39]. Miyelin kılıflar, MSS'de oligodendrositler tarafından oluşturulurken, periferik sinir sistemi (PSS)'nde nöral krest hücrelerinden köken alan Schwann hücreleri tarafından oluşturulur [39]. Marjinal tabaka, MSS'ye giren ve çıkan aksonların yanı sıra, MSS'de daha yüksek veya daha düşük seviyelere giden akson yollarını da içerir [39]. Ventriküler tabakada nöron üretimi azaldıktan sonra, bu tabakada yeni bir hücre tipi olan glioblast üretilmeye başlanır ve bu hücreler de MSS'nin glia hücreleri olan, nöronlara metabolik ve yapısal destek sağlayan astrosit ve oligodendrositlere farklanır [39]. Ventriküler tabaka tarafından üretilen son hücreler olan ependimal hücreler, beyin ventriküllerini ve omuriliğin merkezi kanalını kaplar. Ependim hücreleri beyin ventriküllerini, omuriliğin merkezi kanalını ve MSS'yi

çevreleyen subaraknoid boşluğu dolduran beyin-omurilik sıvısının (BOS) üretilmesinden sorumludur. BOS, beyni koruyan ve destekleyen bir sıvı ceketi görevi görmektedir [39].

2.1.3. Primer ve sekonder beyin vezikülleri

Gelecekteki beyin, nöral plağın genişlemiş kraniyal kısmı olarak görülebilir. Nöral plak kıvrılmaya başlamadan önce, beynin üç ana bölümü olan prosensefalon (ön beyin), mezensefalon (orta beyin) ve rombensefalon (arka beyin) nöral plaktaki girintilerle sınırlandırılmıştır [39]. Embriyonik dönemin 22. gününde, gelecekteki gözler ön beyin nöral kıvrımlarından oluşan çıkıntılar olarak görünmektedir [39]. Nöral plağın kıvrılması 22. günde başlar ve kraniyal nöropor yirmi dördüncü günde kapanır. Daha sonra üç beyin bölümü, nöral tüpün primitif beyin vezikülleri olarak adlandırılan genişlemeler şeklinde işaretlenir [39].

Nöromer adı verilen bir dizi dar şişlik, gelecekteki beyinde belirgin hale gelir. Bunlar, türe bağlı olarak yedi veya sekiz rombomerin, nöral tüpü yaklaşık olarak eşit büyüklükte bölümlere ayırdığı arka beyinde daha belirgindir. Geçici yapılar olan rombomerler emriyonik dönemin 6. haftasının başlarında ayırt edilemez hale gelirler [39].

Embriyonik dönemin 5. haftası boyunca mezensefalon büyür ve hem prosensefalonun hem de rombensefalonun iki kısma ayrılmasıyla üç primitif beyin vezikülü, beş sekonder beyin vezikülüne dönüşür [39]. Prosensefalon, kraniyal telensefalon ve kaudal diensefalon olarak ikiye ayrılırken rombensefalon gibi diensefalon da prosomer adı verilen bir dizi üç ya da dört bölüme ayrılır. Rombensefalon, 1. ve 2. rombomerden oluşan kraniyal metensefalon ve geriye kalan rombomerlerden oluşan kaudal miyelensefalon olarak ikiye ayrılır [39]. Her bir beyin vezikülünün içindeki nöral kanal, primitif ventrikül adı verilen bir boşluk şeklinde genişler. Primitif ventriküller daha sonra olgun beynin esas ventrikülleri haline gelecektir [39]. Rombensefalon boşluğu dördüncü ventrikül, mezensefalon boşluğu serebral akuadukt (Sylvius kanalı), diensefalon boşluğu üçüncü ventrikül ve telensefalon boşluğu serebral hemisferlerin çift lateral ventrikülleri haline gelir [39]. Kaudal nöroporun kapanmasından sonra, gelişmekte olan beyin ventrikülleri ve daha kaudalde yer alan omuriliğin merkezi kanalı, kan plazmasının özel bir diyalizatı olan BOS ile dolar [39].

2.1.4. Beyin fleksürleri

Embriyonik dönemin 4. ve 8. haftaları arasında beyin tüpü üç yerde keskin bir şekilde bükülür. Bunlardan ilki, orta beyin bölgesindeki mezensefalik fleksürdür (kraniyal veya sefalik fleksür). İkincisi, miyelensefalon ile omurilik arasındaki kavşağın yakınında bulunan servikal fleksürdür. Mezensefalik ve servikal fleksür, beyin tüpünün ventral katlanmasını içerir. Üçüncüsü, pontin fleksür adı verilen ters, dorsal yönlü bir fleksiyondur ve gelişmekte olan ponsun bulunduğu yerde başlar [39]. Sekizinci haftada, pontin fleksürün derinleşmesi metensefalonu gelişmekte olan beyincikle birlikte myelensefalona geri katlar [39].

2.1.5. Rombensefalon

Rombensefalonda ya da arka beyinde, nöral tüpün duvarları dorsal olarak açılır, böylece tavan plağı gerilerek genişler ve arka beynin iki tarafı birbirine geniş bir açıyla konumlanır [39]. Gelecekte dördüncü ventrikül olacak rombensefalik nöral kanal, dorsal görünümde eşkenar dörtgen şeklindedir ve en geniş noktası pontin fleksürde bulunur [39]. Büyük ölçüde genişlemiş tavan plağı ile bitişik olan alar plağın dorsal kenarına rombik dudak adı verilir [39]. Metensefalik kısmı serebellumun granül hücrelerine katkıda bulunur [39].

İnce rombensefalik tavan plağı esas olarak bir ependim tabakasından oluşur ve üzeri iyi damarlanmış bir pia mater tabakası ile kaplıdır [39, 40]. Bu yapıların ikisi birlikte tela koroidea olarak isimlendirilir [40]. Orta hattın her iki yanında, pia mater ve ependim, dördüncü ventriküle doğru çıkıntı yapan küçük, parmak benzeri yapılardan oluşan bir bölge oluşturur [39]. Koroid pleksus adı verilen bu bölge BOS salgılamak üzere özelleşmiştir [39]. Benzer koroid pleksuslar ön beynin ventriküllerinde de gelişir [39]. BOS omuriliğin merkezi kanalı ve beynin ventrikülleri boyunca sürekli dolaşır ayrıca subaraknoid yoluyla MSS'yi çevreleyen boşluktan kana geri emilir. BOS, dördüncü ventrikülün tavan plağında açılan tek bir medyan açıklık (Magendie forameni) ve iki lateral açıklık (Luschka forameni) olmak üzere toplamda üç delik aracılığıyla subaraknoid boşluğa erişir [39].

Myelensefalon

Myelensefalon, beynin omuriliğe en çok benzeyen kısmı olan medulla oblongataya farklanır ve yan duvarlarının dışa dönük olmasıyla omurilikten ayrılır [39, 40]. Sulkus limitans ile ayrılan alar ve bazal plaklar net bir şekilde ayırt edilebilir ve myelensefalonun bazal plağı, omuriliğinkine benzer şekilde motor çekirdekleri içerir. Bu çekirdekler; medial somatik efferent grup, intermedier özel visseral efferent grup ve lateral genel visseral efferent grup olarak üçe ayrılır [40]. Somatik efferent grup içinde ön boynuz hücrelerinin sefalik devamını oluşturan motor nöronları bulunmaktadır. Bu grup mezensefalona doğru rostral olarak devam ettiği için somatik efferent motor kolon şeklinde isimlendirilir. Bu kolondan; myelensefalon dil kas sistemini inerve eden hipoglossal (XII) sinirin nöronlarını içerirken, metensefalon abdusens (VI) ve mezensefalon okülomotor (III) ile troklear (IV) sinirlerin nöronlarını içerir. Abdusens (VI), okülomotor (III) ve troklear (IV) sinirler göz kas sistemini inerve eder [40]. Metensefalona uzanan özel visseral efferent grup, özel visseral efferent motor kolonu oluşturur ve metensefalonda bu kolonun sinirlerinin (trigeminal (V) ve fasiyal (VII)) nöronları faringeal arkların çizgili kaslarını inerve eder. Myelensefalonda, özel visseral efferent motor kolonu glossofaringeal (IX), vagus (X) ve aksesuar (XI) sinirlerin nöronlarıyla temsil edilmektedir [40]. Genel visseral efferent grup, kalbin istemsiz kas sistemini, solunum yollarını ve sindirim kanalını inerve eden motor nöronları içermektedir [40].

Alar plak üç grup duyusal çekirdek içermektedir. Bu çekirdeklerden en lateralde olanı somatik afferent gruptur ve glossofaringeal sinir (IX) yoluyla farinksten ağrı, sıcaklık ve dokunma duyularını almaktadır. İntermedier veya özel afferent grup; dil, damak, orofarinks ve epiglotun tat tomurcuklarından gelen impulslar ile işitme ve denge için vestibülokoklear sinirinden (VIII) gelen impulsları almaktadır. Medial veya genel visseral afferent grup da gastrointestinal sistem ve kalpten interoseptif bilgi toplamaktadır [40].

Metensefalon

Bazal ve alar plaklarla karakterize edilen ve myelensefalona benzeyen metensefalondan iki yapı gelişir [40]. Bu yapılardan biri bazal plaklardan oluşan ve omuriliği hem serebral kortekse hem de serebellar kortekse bağlayan sinyalleri iletme işlevi gören ponstur diğeri de alar plaklardan oluşan, denge ve postüral kontrol merkezi olan serebellumdur [39, 40].

Pons, esas olarak metensefalonun bazal kolonlarının marjinal tabakasından kaynaklanan büyük akson traktuslarını içermektedir böylece omurilik ile serebral ve serebellar korteksler arasındaki sinir lifleri için bir köprü görevi görür [39, 40]. Buna ek olarak; pons, metensefalon ve myelensefalonun alar plaklarından kaynaklanan ventral yerleşimli pontin çekirdekleri içermektedir ve bunlar serebrumdan serebelluma girdi aktarır [39, 40].

Metensefalonun her bir bazal plağı; abdusens (VI) sinirinin çekirdeğini meydana getiren medial somatik efferent grup, birinci ve ikinci faringeal arkların kas sistemini innerve eden trigeminal (V) ve fasiyal (VII) sinirlerin çekirdeklerini içeren özel visseral efferent grup ve aksonlarıyla submandibular ve sublingual bezleri inerve eden genel visseral efferent grup olmak üzere üç grup motor nöron içermektedir [40].

Metensefalonun alar plakları; trigeminal (V) sinirin nöronlarını içeren lateral somatik afferent grup, özel afferent grup ve genel visseral afferent grup olmak üzere üç grup duyusal çekirdek içermektedir [40].

2.1.6. Mezensefalon

Mezensefalonun ya da orta beynin büyük bir kısmı ak maddeden, özellikle de ön beyni arka beyin ve omuriliğe bağlayan büyük traktuslardan oluşur [39]. Mezensefalonda her bir bazal plak; göz kaslarını innerve eden medial somatik efferent grup ve sfinkter pupiller kasını innerve eden küçük bir genel visseral efferent grup olmak üzere iki grup motor çekirdek içermektedir [40].

Mezensefalik trigeminal çekirdek olarak adlandırılan trigeminal sinirin (V) duyusal çekirdeğinin bir kısmı gibi okülomotor (III) ve troklear (IV) sinirlerin motor çekirdekleri, mezensefalonda bulunur; ancak bu çekirdeklerden sadece okülomotor (III) ve trigeminal (V) sinirin çekirdekleri mezensefalik nöroepitelyal hücrelerden farklanırken troklear (IV) sinirin çekirdekleri metensefalondan farklanır ve ikincil olarak mezensefalona yerleşir [39]. Okülomotor (III) sinirin iki çekirdeğinden biri superior oblik ve lateral rektus ekstrinsik oküler kaslar dışındaki tüm göz kaslarının hareketlerini kontrol eden somatik motor okülomotor çekirdek diğeri de pupiller konstriktör ve globun siliyer kaslarına parasempatik yollar sağlayan genel visseral efferent Edinger-Westphal çekirdeğidir [39].

Mezensefalonun dorsal yüzeyinde superior ve inferior kolikuluslar olarak adlandırılan dört belirgin kabarıklık görülür [39]. Superior kollikuluslar retinadan akson alıp oküler reflekslere aracılık ederken inferior kollikuluslar kokleadan gelen bilginin serebral hemisferlerin işitsel alanlarına iletildiği yolun bir kısmını meydana getirir [39]. Kollikuluslar, çoğalan ve mediale göç eden mezensefalik alar plak hücreleri tarafından oluşturulur. Bu hücreler tarafından meydana getirilen dorsal kalınlaşma daha sonra bir orta hat çöküklüğüyle bir çift lateral corpora bigeminaya bölünür. Daha sonra bunlar da enine bir çöküklük ile inferior ve superior kollikuluslara ayrılır [39]. Superior kollikuluslar görsel uyarılar için korelasyon ve refleks merkezleri olarak işlev görürken posterior kollikuluslar işitsel refleksler için sinaptik röle istasyonları olarak görev yapar [39, 40]. Her bir bazal plağın marjinal tabakası genişler ve krus serebriyi oluşturur. Bu kruslar, serebral korteksten pons ve omurilikteki alt merkezlere inen sinir lifleri için yol görevi görür [40].

Gelişim sırasında mezensefalonun primitif ventrikülü dar serebral akuaduktusa dönüşür. Ön beynin koroid pleksusları tarafından üretilen BOS, dördüncü ventriküle ulaşmak için serebral akuadukttan akar [39].

2.1.7. Prosensefalon

Prosensefalon ya da ön beyin, diensefalon ve telensefalon olmak üzere iki sekonder beyin vezikülünden oluşur [39]. Diensefalonun duvarları, bir dizi nöronal merkezi ve traktusu oluşturmak üzere farklılaşır ayrıca diensefalonun tavan plağı, taban plağı ve ependimi nispeten benzersiz olan mekanizmalarla birkaç özelleşmiş yapıyı meydana getirmektedir. Koroid pleksus, sirkumventriküler organlar, hipofiz bezinin arka lobu (nörohipofiz) ve optik veziküller bu yapılar arasında yer almaktadır [39].

İnce dorsal telensefalon (pallium), serebral hemisferler ile bunları birleştiren komissürleri ve diğer yapıları meydana getirir ayrıca olfaktör bulbusları ve olfaktör traktusları da oluşturur. Bunlar serebral hemisferlerin olfaktör merkezleri ve traktuslarıyla birlikte rinensefalonu (burun-beyin) meydana getirir [39]. Telensefalonun daha kalın olan ventral kısmı (subpallium), daha sonra bazal ganglionları meydana getirecek ganglion eminenslerini oluşturmak üzere nöral kanala doğru tomurcuklanır [39].

Diensefalon

Diensefalonun duvarları alar plaklardan oluşurken bazal plaklar bulundurmaz [39]. Alar plaklar, arka beynin rombomerlerine benzer şekilde prosomerler olarak da isimlendirilen nöromerleri oluşturur. Bunlar; pretalamus ve hipotalamusu oluşturan bir rostral nöromer, talamus ve epitalamusu oluşturan bir orta nöromer ve pretektumu oluşturan bir kaudal nöromer olmak üzere üç alt bölüm şeklindedir [39]. Talamus ve hipotalamus farklılaşarak çok çeşitli işlevlere hizmet eden çekirdek kompleksleri meydana getirmektedir [39]. Talamus esas olarak serebral korteks için subkortikal yapılardan kortekse yansıyan tüm bilgileri alan ve bu bilgileri gerektiği şekilde işleyip uygun kortikal alana veya alanlara ileten bir röle merkezi görevi görmektedir [39]. Talamus içinde görme duyusu lateral genikülat çekirdek tarafından, işitme duyusu ise medial genikülat çekirdek tarafından işlenmektedir [39]. Hipotalamus, hipofizin endokrin aktivitesinin yanı sıra birçok otonomik yanıtı düzenler ve duyguları kontrol edip duygusal durumu uygun visseral tepkilerle koordine eden limbik sisteme katılır. Hipotalamus ayrıca beynin uyarılma seviyesini de kontrol eder [39]. Epitalamus birkaç küçük yapıya meydana getirmektedir [39].

Embriyonik dönemin 5. haftasının sonunda diensefalik nöral kanalın iç yüzeyinde talamus ve hipotalamus, hipotalamik sulkus adı verilen derin bir olukla ayrılmış şişlikler olarak görülür [39]. 7. haftadan sonra talamus orantısız bir şekilde büyür ve diensefalonun en büyük parçası haline gelir [39]. Genellikle üçüncü ventrikül boyunca iki talami, intertalamik yapışıklıklar adı verilen bir veya daha fazla noktada birleşip kaynaşır [39].

Embriyonik dönemin 6. haftasının sonunda talamus, sulkus dorsalis adı verilen sığ bir olukla, diensefalik duvarın dorsal kenarında ve bitişik tavan plağında oluşan epitalamik şişlikten ayrılır [39]. Epitalamik tavan plağı, endokrin epifiz bezine farklılaşacak bir orta hat divertikülü oluşturmak üzere evagine olur. Epitalamus ayrıca trigonum habenulayı (nükleus habenula dahil), iki küçük komissür ile posterior ve habenular komissürleri oluşturur. Sonunda talamusun büyümesi sulcus dorsalis'i yok ederek epitalamik yapıları dorsale kaydırır [39]. Epitalamusun kranialinde epitelyal olarak kalan diensefalik tavan plağı, üçüncü ventrikülün çift koroid pleksuslarını oluşturmak için üstteki pia materle birlikte farklılaşır [39]. Üçüncü ventrikülün başka yerlerinde ependim, BOS'a spesifik metabolitler ve nöropeptitler ekleyen ve topluca sirkumventriküler organlar olarak bilinen

bir dizi benzersiz salgı yapısı oluşturur. Bu yapılar arasında subfornikal organ, lamina terminalisin organum vaskülozumu ve subkommissural organ bulunmaktadır [39].

Optik kaplardan gelen retinal lifler lateral genikülat çekirdeklere projekte olur ve retinal ganglion hücrelerinden gelen aksonlar optik (II) sinirler yoluyla diensefalona doğru geri büyür [39]. Her iki gözden büyüyen aksonlar beyne girmeden hemen önce, her bir gözün iç (nazal) tarafından gelen aksonların beynin diğer tarafına geçtiği, her bir gözün dış (temporal) tarafından gelen aksonların ise aynı tarafta kaldığı ortak bir orta hat yapısı olan optik kiazmayı oluşturmak için birleşir böylece her iki gözün görme alanının sol yarısından gelen bilgileri aktaran aksonlar beynin sağ tarafına projekte olurken her iki gözün görme alanının sağ yarısından gelen bilgileri aktaran aksonlar beynin sol tarafına projekte olur [39]. Ortaya çıkan ipsilateral ve kontralateral lif demetleri daha sonra lateral genikülat çekirdeğe geri projekte olur ve burada görsel alanın bir haritasını oluşturmak için sinaps yaparlar. Tüm retinal lifler lateral genikülat çekirdeklere projekte olmaz. Bazıları, oküler refleks kontrolüne aracılık etmek için superior kollikulusta sonlanır [39].

Hipofiz Bezi

Embriyonik dönemin 3. haftası boyunca, üçüncü ventrikülün tabanında gelişen ve infundibulum adı verilen bir divertikül ventral olarak stomodeuma doğru büyür [39]. Eş zamanlı olarak, stomodeumun (maksiller ve mandibular çıkıntılar arasında, gelecekteki ağız açıklığına yakın ektodermal astarlı bir boşluk) tavanında bir ektodermal plakod belirir ve infundibuluma doğru dorsal olarak büyüyen Rathke kesesi (Rathke poşu) adı verilen bir divertikül oluşturmak üzere invajine olur [39]. Rathke kesesi sonunda stomodeum ile bağlantısını kaybeder ve infundibulumun kraniyal yüzeyine yapışan ayrı bir kese oluşturur [39]. Bu kese farklılaşarak hipofizin adenohipofiz bölümünü meydana getirir ve kesenin ön yüzeyindeki hücreler hipofizin ön lobunu oluştururken kesenin arka yüzeyindeki küçük bir hücre grubu işlevsel olarak farklılık gösteren pars intermediayı oluşturur [39]. Bu arada, infundibulumun distal kısmı farklılaşarak arka hipofizi (nörohipofiz) oluşturur [39]. İnfundibulumun lümeni bu süreçle birlikte yok olur; ancak üçüncü ventrikülün tabanında küçük bir proksimal çukur (infundibular girinti) varlığını sürdürür [39].

Telensefalon

Serebral hemisferler, ilk olarak gelişimin 32. gününde telensefalonun bir çift kabarcık benzeri çıkıntısı şeklinde ortaya çıkar. 16. haftada, hızla büyüyen ve oval olan hemisferler diensefalonu kaplayacak şekilde geriye doğru genişlemiştir [39]. Her bir yarım kürenin ince tavanı ve yan duvarları gelecekte serebral korteksi oluşturacaktır. Daha kalın olan taban, bazal ganglionları (korpus striatum ve globus pallidus) meydana getiren ganglionik eminens adı verilen nöronal kümelenmeleri içerir [39]. Hemisferler büyüdükçe diensefalonun duvarlarına baskı yapar ve başlangıçta iki yapıyı ayıran meningeal tabakalar kaybolur böylece talamusun nöral dokusu serebral hemisferlerin tabanınınkiyle sürekli hale gelir. Sonunda eski sınır, iç kapsül adı verilen, korpus striatumdan geçerek ona çizgili görünümünü veren, talamustan serebral kortekse ve serebral korteksten talamusa, beynin alt bölgelerine ve omuriliğe aksonlar taşıyan büyük bir akson demeti tarafından geçilir [39].

Başlangıçta düz yüzeyli olan serebral hemisferler, büyüdükçe giderek daha karmaşık bir girus (çıkıntı) ve sulkus (girinti) içeren yapıya kavuşur [39]. Bu süreç 4. ayda her bir hemisferin yan duvarında lateral serebral fossa adı verilen küçük bir girintinin oluşmasıyla başlar. Uzayan her bir hemisferin kaudal ucu ventral olarak kıvrılır ve daha sonra bu fossa boyunca öne doğru büyüyerek serebral hemisferin temporal lobunu oluşturur ve fossa lateral serebral sulkus adı verilen derin bir yarığa dönüşür. Başlangıçta fossanın medial tabanını oluşturan serebral korteks kısmı temporal lob tarafından kaplanır ve insula olarak adlandırılır [39]. Gelişimin 6. ayında, birkaç serebral sulkus daha oluşmuştur ve bunlar arasında frontal ve parietal lobları ayıran merkezi sulkus ile oksipital lobu sınırlayan oksipital sulkus bulunmaktadır [39]. Serebral hemisferlerde oluşan ayrıntılı girus modeli bireyden bireye az da olsa farklılık gösterir [39]. Beynin yüzey alanını etkili bir şekilde arttıran giruslar ve sulkuslar tam olarak büyüdüğünde bir yastık kılıfı büyüklüğüne ulaşır [39].

Her serebral hemisfer, lateral ventrikül adı verilen telensefalik primitif ventrikülün bir divertikülünü içerir [39]. Lateral ventrikül başlangıçta hemisfer hacminin çoğunu kaplar; ancak korteksin kalınlaşmasıyla giderek daralır. Bununla birlikte, hemisferin tabanı ile medial duvarı arasındaki çizgi boyunca, beyin duvarı kalınlaşmaz, bunun yerine ince ve epitelyal kalır. Bu bölge ventrikülde uzunlamasına bir oluk oluşturur ve bu oluk koroid

fissürü olarak adlandırılır [39]. Koroid fissür boyunca bir koroid pleksus gelişir [39]. Lateral ventrikül her bir yarımkürenin tüm uzunluğu boyunca uzanır, anteriorda frontal loba ulaşır ve posterior ucunda temporal lobu işgal etmek üzere kıvrılır [39]. Her bir lateral ventrikül ile üçüncü ventrikül arasındaki açıklık interventriküler foramen (Monro forameni) olarak devam eder [39].

Serebral hemisferlerin nöroepiteli başlangıçta nöral tüpün diğer kısımlarınınkine çok benzer; ancak serebral histogenez üzerine yapılan çalışmalar, olgun korteksin üretildiği çoğalma, göç ve farklılaşma sürecinin benzersiz olduğunu göstermiştir [39]. Serebral korteks birkaç hücre katmanından (veya laminadan) oluşur [39]. Filogenetik olarak en eski kısımlarda üç olan bu sayı, baskın neokortekste altıya kadar değişiklik gösterir [39]. MSS'nin diğer bölgelerinde aksonları içeren ak madde, nöronal hücre gövdelerini içeren gri maddenin dışında oluşurken bu durum serebral kortekste tersine döner ve burada aksonlar gri maddenin derinliklerinde yer alan ve böylece beynin dış yüzeyini oluşturan bir ara bölgeden girip çıkarlar [39]. Gri ve beyaz maddenin bu içten dışa doğru düzenlenişinin nasıl geliştiğinin ayrıntıları karmaşıktır ve hala tam olarak anlaşılamamıştır [39]. Ventriküler tabakanın çoğalan hücreleri, periferik olarak göç eden ve korteksin nöronal katmanlarını oluşturan nöron dalgalarını üretmek için bir dizi düzenlenmiş bölünmeye uğrar [39]. Aksonlar nöronal katmanların iç veya derin yüzeyinde, ventriküler bölge ile bu hücrelerin arasında uzanır. Dahası, kortikal katmanlar derinden yüzeye doğru bir sırayla yerleştirilir, yani her dalganın nöronları daha yüzeysel bir katman oluşturmak için önceki katmanlardan göç eder [39]. Nöron üretimi azaldıkça, ventriküler tabaka çeşitli glia türlerini ve ardından ependimi meydana getirir [39].

Ventriküler bölgeden üretilen ilk nöronlar, gelişmekte olan pia materin hemen altında yer alan yüzeysel bir tabaka olan preplağı oluşturur [39]. Aksonlar bu nöronlardan preplağın iç tarafına doğru uzanarak bir intermedier bölge meydana getirir [39]. Oluşacak bir sonraki nöronlar preplağın ortasına göç ederek onu yüzeysel bir marjinal bölgeye (gelecekteki lamina I) ve derin subplağa bölerek kortikal plak adı verilen bir orta tabaka oluşturur [39]. Genç nöronlar, önceden oluşturulmuş ve prosesleri korteksin tüm kalınlığına yayılan bir radyal glial hücre dizisinin yüzeylerine göç eder [39]. Kortikal plak ve subplaktaki nöronlardan gelen aksonlar, intermedier bölgede halihazırda bulunanlara katılır [39]. İntermedier bölge daha sonra korteksin ak maddesi haline gelecektir [39]. Kortikal plağın ilk nöronları tamamlanmış korteksin derin katmanlarını (lamina VI ve V) oluştururken,

daha sonra meydana gelen hücreler ventriküler bölgeden intermedier bölge ve subplak boyunca, kortikal plağın daha önceki VI. ve V. katmanları üzerinden radyal olarak göç ederler ve bu süreçte sırayla daha yüzeysel olan IV., III. ve son olarak II. tabakayı oluştururlar [39]. Nörogenez ilerledikçe, yeni nöronlar ventriküler bölgenin derinliklerinde uzanan ve subventriküler bölge olarak adlandırılan yardımcı bir germinatif bölgede giderek daha fazla oluşur [39]. Böylece neokorteksin başlıca uyarıcı nöronları olan piramidal hücreler ile subkortikal hedeflere ve kontralateral hemisfere projeksiyon yapan büyük nöronlar meydana gelmiş olur [39]. Piramidal nöronlardan daha çok sayıda bulunan ancak daha küçük olan inhibitör internöronlar, yani granül hücrelerin çoğu yerleştikleri kortikal alanın ventriküler bölgesinden ya da subventriküler bölgesinden kaynaklanmaz bunun yerine ventral telensefalonun gangliyonik eminenslerinden kaynaklanır ve teğet bir yolla kortekse dorsal olarak göç ederler [39].

Yetişkin neokorteksteki gri maddenin ana bileşenleri lamina II ile VI arasındadır [39]. Lamina I ve subplağa katkıda bulunan ilk oluşan nöronlar daha sonra gelişimde kaybolur; ancak geçici varlıkları normal kortikal histogenez için kritiktir [39]. Lamina I (marjinal bölge), Cajal-Retzius hücreleri olarak adlandırılan geçici nöronları içerir, bunların çoğu telencefalonun dorsal orta hat yapısından kaynaklanır ve teğetsel olarak lamina I'e göç eder [39]. Cajal-Retzius hücrelerinin, büyük glikoprotein reelin salgılayarak nöronların kortikal plakta içeriden dışarıya doğru göçlerini düzenlediğine inanılmaktadır [39]. Reelin veya reelin sinyal yolundaki diğer proteinlerin yokluğunda, birbirini izleyen genç nöron dalgalarının, daha yüzeysel bir katman oluşturmak için göç etmek yerine öncekilerin içine yığıldığı belirtilmektedir [39]. Subplaktaki nöronların, talamik aksonların uygun kortikal alana doğru düzenli bir şekilde büyümesine rehberlik etmede çok önemli olduğu düşünülmektedir [39].

Nazal plakodlar 4. haftanın sonunda oluşur [39]. Çok erken dönemde, nazal plakoddaki bazı hücreler farklılaşarak gelecekteki olfaktör epitelin primer nörosensör hücrelerini oluşturur [39]. 5. haftanın sonunda, bu hücreler telensefalonun en kraniyal ucuna nüfuz etmek için kısa mesafeyi geçen aksonlar filizlendirir. Bu aksonların etrafındaki etmoid kemiğin daha sonraki kemikleşmesi delikli kribriform plakları oluşturur [39]. Altıncı haftada, burun çukurları farklılaşarak burun kanallarının epitelini oluştururken, her bir serebral hemisferin ucundaki alan olfaktör bulbus adı verilen bir çıkıntı oluşturmaya başlar [39]. Olfaktör bulbusta bulunan ve primer duyusal nöronların aksonlarıyla sinaps yapan

hücreler farklılaşarak olfaktör yolların sekonder duyusal nöronları (mitral hücreler) haline gelir. Bu hücrelerin aksonları serebral hemisferlerin olfaktör merkezlerinde sinaps yapar [39]. Yüzün ve beynin değişen boyutları, olfaktör bulbuslar ile bunların hemisferlerdeki çıkış noktaları arasındaki mesafeyi uzattıkça, sekonder olfaktör nöronların aksonları da sap benzeri olfaktör traktusları oluşturmak üzere uzar [39]. Geleneksel olarak, olfaktör traktus ve bulbus birlikte olfaktör (I) sinir olarak adlandırılır [39].

Sağ ve sol serebral hemisferleri birbirine bağlayan komissürler, nihai nöropor kapanma bölgesini temsil eden telensefalonun kranial ucundaki bir kalınlaşmadan oluşur. Bu bölge dorsal komissural plak ve ventral lamina terminalis olarak ikiye ayrılır [39]. Komissural plakta gelişen ilk akson traktusu, 7. haftada oluşan ve iki hemisferin olfaktör bulbusları ile olfaktör merkezlerini birbirine bağlayan anterior komissürdür [39]. 9. haftada, serebral hemisferin filogenetik olarak eski bir bölümü olan ve koroid fissürün bitişiğinde yer alan sağ ve sol hipokampi arasında hipokampal veya forniks komissür oluşur [39]. Birkaç gün sonra, sağ ve sol neokorteksleri tüm uzunlukları boyunca birbirine bağlayan büyük, kavisli korpus kallozum oluşmaya başlar [39]. Korpus kallozumun en ön kısmı ilk olarak ortaya çıkar ve arka uzantısı (splenium) fetal yaşamın ilerleyen dönemlerinde oluşur [39].

2.1.8. Beyin gelişiminin moleküler düzeyde denetlenmesi

MSS'nin, anteroposterior (kraniokaudal) olarak şekillenmesi gastrulasyon ve nöral indüksiyon sırasında başlar [40]. Nöral plak oluştuktan sonra beynin ön beyin, orta beyin ve arka beyin bölgelerine farklanması için notokord, prekordal plak ve nöral plakta ifade edilen homeobox genlerinden sinyaller türetilir [40]. Arka beyinde, Antennapedia sınıfı homeobox genleri olan HOX genlerinin değişken ifade modellerine sahip olan sekiz segmen, yani rombomer bulunur [40]. Bu genler, bir gen kümesinin 3' ucundaki genleri daha anterior sınırlara ve aynı ekspresyon alanlarına sahip olan paralel genlere karşılık gelecek şekilde üst üste binen ya da iç içe geçmiş modellerle eksprese edilmektedir [40]. Ayrıca 3' ucundaki genler 5' ucundakilerden daha önce eksprese edilir, böylece ekspresyon modeliyle zamansal bir ilişki kurulur [40]. Sonuç olarak bu genler, arka beynin ön-arka ekseni boyunca konumsal değer kazandırır, rombomerlerin kimliğini tanımlar ve türevlerini belirler [40]. Bu düzenlemenin nasıl gerçekleştiği açık değildir; ancak retinoidler (retinoik asit) HOX ekspresyonunun düzenlenmesinde kritik bir rol oynar [40]. Örneğin, fazla miktardaki retinoik asit HOX gen ekspresyonunu anteriora kaydırır ve daha

fazla kranial rombomerin daha kaudal yapılara farklanmasına neden olur [40]. Retinoik asit eksikliği küçük bir arka beynin oluşmasına yol açar [40]. Ayrıca HOX genleri tarafından retinoik aside karşı verilen tepkiler farklıdır ve gen kümesinin 3'ucundaki genler 5' ucundakilere göre daha hassastır [40].

Ön beyin ve orta beyin bölgelerinin belirlenmesi de homeodomain içeren genler tarafından düzenlenir; ancak bu genler Antennapedia sınıfından değildir [40]. Bu nedenle, evrimsel olarak "yeni kafa" oluşturan beynin bu bölgeleri için modelleme rolünü yeni genler üstlenmiştir [40]. Nöral plak aşamasında, prekordal plakta eksprese edilen LIM1 ve nöral plakta eksprese edilen OTX2, ön beyin ve orta beyin bölgelerini belirlemek için önemlidir ve bu durumda LIM1'in, OTX2 ekspresyonunu desteklediği söylenmektedir [40]. Bu genler gastrulasyonun en erken aşamalarında da ifade edilir ve epiblastın tüm kraniyal bölgesinin belirlenmesine yardımcı olurlar [40]. Nöral kıvrımlar ve faringeal arklar ortaya çıktıktan sonra OTX1, EMX1 ve EMX2 dahil olmak üzere ek homeobox genleri, orta ve ön beyin bölgelerinde spesifik ve üst üste binen (iç içe geçmiş) modellerde eksprese edilip bu alanların kimliğini belirler [40]. Bu sınırlar belirlendikten sonra, nöral plağın kraniyal sınırı ile nöral olmayan ektodermin birleştiği yerdeki anterior nöral sırt (ANR) ve arka beyin ile orta beyin arasındaki istmus olmak üzere iki ek düzenleme merkezi ortaya çıkar [40]. Her iki konumda da fibroblast büyüme faktörü 8 (FGF8) anahtar sinyal molekülüdür ve farklılaşmayı düzenleyen sonraki gen ekspresyonunu indükler [40]. Dört somit evresindeki ANR'de FGF8, bir transkripsiyon faktörü olan FOXG1'in ekspresyonunu indükler [40]. FOXG1 daha sonra telensefalonun gelişimini ve bazal telensefalon ve retina dahil olmak üzere ön beyin içindeki bölgesel özellikleri düzenler [40]. Orta beyin ve arka beyin bölgelerinin bağlantı noktasındaki istmus çevresinde FGF8 bir halka içinde eksprese edilir [40]. FGF8, istmustan anterior ve posterior olarak yayılan ve homeobox içeren ENGRAILED 1 ve 2 (EN1 ve EN2) olmak üzere iki genin ekspresyonunu indükler [40]. EN1, dorsal orta beyin (tektum) ve anterior arka beyin (serebellum) gelişiminin de dahil olduğu ekspresyon bölgesi boyunca bütün gelişimi düzenlerken, EN2 yalnızca serebellar gelişimde rol oynamaktadır [40]. FGF8 ayrıca WNT1 ekspresyonunu FGF8 ekspresyon bölgesinin önündeki çevresel bir bantta indükler [40]. WNT1, serebellum da dahil olmak üzere bu bölgenin gelişimini düzenlemek için EN1 ve EN2 ile etkileşime girer [40]. WNT1 orta beyin bölgesinin erken dönem gelişimine yardımcı olmaktadır; çünkü nöral plak aşamasında bu bölgede eksprese edilmektedir [40]. Bu erken dönemde, orta beyin-arka beyin bağlantı noktasının altında yatan mezodermde eksprese edilen FGF8, WNT1

ekspresyonunu ve bu bölgenin erken farklanmasını düzenlemektedir [40]. İstmus, OTX2 ekspresyonunun kaudal sınırında yer alan gerçek orta beyin-arka beyin birleşiminin biraz arkasında oluşur [40].

Dorsoventral (mediolateral) şekillenme ön beyin ve orta beyin bölgelerinde de görülür [40]. Ventral şekillenme, MSS'nin geri kalanında olduğu gibi SHH tarafından kontrol edilir [40]. Prekordal plak tarafından salgılanan SHH (sonic hedgehog), hipotalamusun gelişimini düzenleyen ve homeodomain içeren bir gen olan NKX2.1'in ekspresyonunu indükler [40].

Nöral tüpün dorsal (lateral) şekillenmesi, nöral plağa bitişik nöral olmayan ektodermde eksprese edilen BMP4 ve BMP7 tarafından kontrol edilir [40]. BMP4 ve BMP7, orta hatta MSX1 ekspresyonunu indükler ve FOXG1 ekspresyonunu baskılar [40]. Nöral tüp kapandıktan sonra, BMP2 ve BMP4 tavan plağında eksprese edilir ve bu proteinler kortekste transkripsiyon faktörü LHX2'nin ekspresyonunu düzenler [40]. Bu ekspresyon daha sonra bu bölgeyi şekillendirmek için bir dizi genin ekspresyonunu başlatır [40].

Beynin anterior-posterior (kraniokaudal) ve dorsoventral (mediolateral) şekillenmesini düzenleyen genlerin ekspresyon kalıpları bu bölgelerin sınırlarında örtüşür ve etkileşime girer [40]. Ayrıca, çeşitli beyin bölgeleri belirli sinyallere yanıt verme ve diğerlerine yanıt vermeme yetkinliğine sahiptir [40]. Örneğin, nöral plağın yalnızca kraniyal kısmı SHH'ye yanıt olarak NKX2.1'i eksprese eder [40]. Benzer şekilde, FGF8'e yanıt olarak sadece anterior nöral plak FOXG1 eksprese ederken orta beyin seviyeleri aynı FGF8 sinyaline yanıt olarak EN2 eksprese eder [40].

2.2. Beyincik Gelişimi

Beyincik ya da serebellum, hem metensefalonun alar plaklarından hem de bitişik rombik dudaklardan meydana gelir ve rombik dudaklar ayrıca serebellar granül hücrelerini ve derin serebellar çekirdekleri oluşturur [39]. Serebellumun rudimenti ilk olarak bir çift kalınlaşmış serebellar plak veya serebellar primordia olarak fark edilir [39]. 2. ayda, büyüyen serebellar plakların kranial kısımları orta hat boyunca birleşerek dördüncü ventrikülü kaplayan tek bir primordium oluşturur. Bu primordium başlangıçta yalnızca dördüncü ventrikülün içine doğru çıkıntı yapar ve dorsale doğru çıkıntı yapmaz [39].

Bununla birlikte, 3. ayın ortasında, büyüyen beyincik dorsale doğru çıkıntı yapmaya başlar ve rombencefalonun kranial ucunda dambıl şeklinde bir şişlik oluşturur [39].

Bu aşamada, gelişmekte olan beyincik posterolateral fissür adı verilen enine bir olukla kranial ve kaudal kısımlara ayrılır. Bir çift flokülonodüler lobdan oluşan kaudal kısım, beyinciğin en ilkel kısmıdır [39]. Daha büyük olan kraniyal kısım, bir çift geniş serebellar hemisferi birbirine bağlayan vermis adı verilen dar bir medyan şişlikten oluşur [39]. Bu kraniyal kısım flokülonodüler loblardan çok daha hızlı büyür ve olgun beyinciğin baskın bileşeni haline gelir [39].

Serebellar vermis ve hemisferler gelişirken karmaşık bir enine katlanma sürecinden geçer. Ana primer fissür 3. ayın sonunda derinleşir ve vermis ile hemisferleri kraniyal bir ön lob ve kaudal bir orta loba böler [39]. Bu loblar ek enine fissürlerin gelişmesiyle (sekonder ve prepiramidal fissürlerden başlayarak) bir dizi lobüle ayrılır ve lobüllerin yüzeyi folia adı verilen sıkışık, yaprak benzeri enine giruslara yerleşmiştir [39]. Bu fissür oluşumu ve foliasyon süreçleri embriyonik, fetal ve postnatal yaşam boyunca devam eder ve serebellar korteksin yüzey alanını büyük ölçüde artırır [39].

Beyincik, bir grup iç derin serebellar çekirdek ve bir dış serebellar korteks olmak üzere iki tip gri maddeye sahiptir [39]. Her iki tarafta dentat, globoz, emboliform ve fastigial çekirdekler olmak üzere dört derin çekirdek oluşur. Serebellar korteksten gelen tüm çıktılar bu çekirdekler aracılığıyla iletilir [39]. Serebellar korteks, tüm serebellumda benzer olan son derece düzenli bir hücresel mimariye sahiptir. Korteksin hücre tipleri katmanlar halinde düzenlenmiştir [39].

Serebellumun derin çekirdekleri ve korteksi, karmaşık bir nörogenez ve nöronal göç süreci ile meydana gelir [39]. Nöral tüpün diğer yerlerinde olduğu gibi, metensefalonun nöroepiteli ventriküler, manto ve marjinal tabakaları oluşturmak için ilk proliferasyona uğrar [39]. Bununla birlikte 3. ayda, marjinal bölge üzerinde ikinci bir çoğalan hücre tabakası oluşur. En kraniyal rombik dudaklardan oluşan bu yeni dış proliferasyon ve nörogenez tabakasına dış germinal tabaka (veya dış granüler tabaka) denir [39].

4. aydan itibaren germinal tabakalar, çeşitli serebellar nöron popülasyonlarını üreten yüksek düzeyde düzenlenmiş hücre bölünmelerine uğrar [39]. Ventriküler tabakada

üretildikten sonra kortekse göç eden Purkinje hücreleri, Golgi hücreleri, sepet hücreleri ve stellat hücreleri olmak üzere dört tip nöron vardır ayrıca bu nöronlarla ilişkili glia (Bergmann glia, astrositler ve oligodendrositler) da ventriküler tabakadan kortekse göç eder [39]. Serebellar korteksin geri kalan hücreleri (granül hücreleri) dış germinal tabakadan ortaya çıkar [39]. Dış germinal tabaka aynı zamanda derin serebellar çekirdekleri oluşturmak üzere göç eden primitif nükleer nöronlara da kaynaklık eder [39].

Yeni oluşan her Purkinje hücresi ventriküler tabakadan kortekse doğru göç ederken, gelişmekte olan serebellar çekirdeklerdeki nöronlarla sinaptik teması sürdüren bir akson çıkarır. Bu aksonlar olgun serebellar korteksin tek efferentlerini oluşturacaktır [39]. Purkinje hücreleri, başlangıçta çok katmanlı olan ancak foliasyon tamamlandığında tek bir katmana dönüşen dış germinal tabakanın hemen altında belirgin bir Purkinje hücre tabakası oluşturur [39]. Sepet ve stellat hücreleri de Purkinje hücreleriyle yakından ilişkili bir şekilde ventriküler tabakadan radyal olarak göç eder ve tamamlanmış korteksin moleküler tabakasını oluşturur [39]. Granül hücreleri farklılaşmaya başladığında Purkinje, sepet ve stellat hücrelerinin tersi bir yönde, gelişen moleküler tabaka boyunca, dış germinal tabakadan ventriküler tabakaya doğru göç ederler. Burada, gelişmekte olan korteksin iç germinal tabakasını veya iç granüler tabakasını oluştururlar, kısaca tamamlanmış korteksin granüler tabakası olarak adlandırılırlar [39]. Granül hücreleri Bergmann (radyal) glia adı verilen glial hücrelerin uzun lifleri boyunca göç eder [39]. Granül hücrelerinin çatallı aksonları korteksin en dış, moleküler katmanında enine seyreder ve Purkinje hücre dendritlerinin yelpaze benzeri diziliminden geçip bunlarla sinaps yapar [39].

2.3. Beyin Anatomisi

2.3.1. Beyin ve medulla spinalis zarları

MSS, meninks adı verilen pia mater, araknoid mater ve dura mater olmak üzere üç ayrı zar tarafından çevrelenmiştir [41]. Pia mater, beyin ve medulla spinalis (omurilik)'i hemen dıştan saran bir zardır [41]. Pia materin beyni saran kısmına pia mater cranialis, medulla spinalis'i saran kısmına pia mater spinalis denir. Bu zar, dışta lamina externa (epipial tabaka) ve içte lamina interna (intima pia) olmak üzere iki tabakadan meydana gelmektedir [41]. Lamina interna BOS'tan beslenen avasküler bir tabakadır ve beyin ile medulla spinalis'i en derin noktaya inecek biçimde sıkıca sarar. Lamina externa da trabecula

arachnoidea yapısına katılır [41]. Pia mater spinalis, medulla spinalis'in alt ucunda kapanır. Bu seviyeden ikinci sakral vertebra seviyesine kadar giden filum terminale'yi oluşturur [41]. Pia materin üzerinde, subaraknoid aralık adı verilen bir boşlukla pia materden ayrılan ve ince bir zar olan araknoid mater bulunur [41]. İçinde BOS dolaşan subaraknoid aralıkta trabecula araknoidea ile MSS'nin damarları yer alır [41]. Araknoid materin beyni saran kısmına araknoid mater cranialis, medulla spinalis'i saran kısmına araknoid mater spinalis denir [41]. Araknoid mater cranialis girusların üzerinde seyrederken sulcusların içine girmez [41]. Araknoid mater cranialis'in devamı olan araknoid mater spinalis ikinci sakral vertebra seviyesinde kapanır [41]. Pia mater ve araknoid mater birlikte leptomeninks olarak adlandırılır [41]. Üç meninks arasında en dışta yer alan dura mater (ya da pakimeninks) esneme özelliği olmayan, kalın bir zardır [41]. Dura mater ve araknoid mater arasında, içinde seröz bir sıvı bulunan ve subdural aralık adı verilen bir boşluk bulunmaktadır [41]. Dura materin beyni saran kısmına dura mater cranialis, medulla spinalis'i saran kısmına dura mater spinalis denir ve dura mater cranialis, lamina externa (periosteal-endosteal tabaka) ve lamina interna (meningial tabaka) olmak üzere iki tabakadan meydana gelmektedir [41]. Lamina interna cavum cranii'yi bölmelere ayıran uzantılar oluşturur. Cavum cranii içinde beynin daha stabil durmasını sağlayan bu uzantılar falx cerebri, falx cerebelli, tentorium cerebelli ve diaphragma sella olarak isimlendirilmektedir [41]. Lamina externa tarafından kafa kemiklerinin iç yüzeyine ve foramen magnum ile kafa kemiklerinde bulunan diğer deliklerin kenarına yapışan lifler gönderilir [41]. Canalis vertebralis'i meydana getiren vertebraların periosteumu lamina externa'ya karşılık gelir [41]. Dura mater spinalis ikinci sakral vertebra seviyesinde kapanır [41]. Cranium boşluğunda bulunan venöz sinüsler dura materin lamina interna tabakası ile lamina externa tabakası arasındadır [41]. Diğer venlere benzer şekilde beynin venöz sinüslerinin de iç yüzü endotel ile kaplıdır fakat duvarlarında kas tabakası bulunmaz [41]. Serebral venler tarafından beyinden getirilen venöz kan ve granulationes arachnoidea tarafından subaraknoid aralıktan getirilen BOS, bu venöz sinüslerle drene olur [41].

2.3.2. Ventriküler sistem ve BOS (beyin-omurilik sıvısı, serebrospinal sıvı, liquor cerebrospinalis)

Beyin ventriküler sistemi; sol ve sağ beyin hemisferleri içinde yerleşim gösteren iki ventriculus lateralis, her iki talamus ve hipotalamusun ortasında bulunan ventriculus tertius ve beyin sapının arka tarafında yer alan ventriculus quartus olmak birbiri ile bağlantılı

yapılardan oluşmaktadır [41]. Her iki ventriculus lateralis de foramen interventriculare (foramen of Monro) olarak isimlendirilen birer delik yardımıyla ventriculus tertius'a açılır. Ventriculus tertius da aqueductus mesencephali (aqueduct of Sylvius, aqueductus cerebri) ile ventriculus quartus'a açılır. Ventriculus quartus, kaudalde medulla spinalis'in içinde uzanan canalis centralis ile bağlantılıdır bağlantılıdır. Bununla birlikte, ventriculus quartus arka tarafta, medialde yer alan apertura mediana (foramen of Magendie) ve her iki lateralde yer alan apertura lateralis (foramen of Luschka) adı verilen deliklerle subaraknoid aralığa açılır [41]. Ventriküllerin iç yüzü ependim hücreleri ile döşelidir [41]. Gelişim sırasında ependim hücrelerinin üzeri iyi damarlanmış bir pia mater tabakası ile örtülüdür [39, 40]. Bu yapıların ikisi birlite tela koroidea olarak isimlendirilir [40]. Pia mater ve ependim, ventrikül boşluğuna doğru çıkıntı yapan küçük, parmak benzeri yapılardan oluşan bir bölge oluşturur [39]. Plexus choroideus adı verilen bu bölge BOS salgılamak üzere özelleşmiştir [41]. Plexus choroideus bütün ventriküllerde bulunur [41].

Ventriculus lateralis

Beynin sol ve sağ hemisferleri içinde bulunan 'C' şekilli boşluklardır [41]. Her bir ventriculus lateralis pars centralis, cornu anterius, cornu posterius, cornu inferius olmak üzere dört bölümden oluşur [41]. Pars centralis; ventriculus lateralis'in, foramen interventriculare ile corpus collosum'un splenium'u arasında uzanan parçasıdır. Bu parçanın üst duvarını corpus callosum'un zemini yapar, alt duvarını nucleus caudatus'un gövdesi ve thalamusun lateral sınırı yapar, medial duvarını önde septum pellucidum yapar ve arkada taban ile tavan medial duvarda birleşir [41]. Cornu anterius; ventriculus lateralis'in, lobus frontalis içinde öne, dışa ve aşağı uzanan parçasıdır. Bu parçanın üst ve ön duvarını corpus callosum'un ön kısmının zemini ve corpus callosum'un genusu, alt duvarını nucleus caudatus'un başı, medial duvarını septum pellucidum ve columnae anteriores fornicis oluşturur [41]. Cornu posterius; ventriculus lateralis'in, arka tarafa doğru lobus occipitalis içine uzanan parçasıdır. Bu parçanın dış ve üst duvarını corpus callosum'un tapetum'u, iç duvarını üstte forceps majör ile altta calcar avis yapar [41]. Cornu inferius; ventriculus lateralis'in aşağı ve öne doğru lobus temporalis içine uzanan parçasıdır. Bu parçanın dış ve üst duvarını radiatio optica ile tapetum, iç duvarını hippocampus, alt duvarını medialde hippocampus ile lateralde eminentia collateralis yapar [41]. Pars centralis, cornu posterius ve cornu inferius'nin birleştiği yer trigonum collaterale olarak isimlendirilir [41]. Ventriculus lateralis'in sadece pars centralis, trigonum

collaterale ve cornu inferius parçalarında bulunan plexus choroideus foramen interventriculare'den geçip ventricularis tertius'unkiyle birleşir [41].

Ventriculus tertius

Ventriculus tertius, solda ve sağda yer alan iki thalamus ile iki hypothalamus arasında, orta hatta kalan yassı şekilli boşluktur ve thalamus'lar arasında adhesio interthalamica ventriculus tertius'un içinden geçer [41]. Solda ve sağda bulunan foramen interventriculare'ler ile ventriculus lateralis'lere bağlanan ventriculus tertius, aquaductus cerebri ile ventriculus quartus'a bağlanır [41]. Ventriculus tertius'un üst duvarını fornix'in corpus kısmı; alt duvarını önden arkaya doğru chiasma opticum, infundibulum, tuber cinereum ve corpus mammillare, substantia perforata posterior ve tegmentum mesencephali; ön duvarını lamina terminalis ve commissura anterior; arka duvarını glandula pinealisin alt ve üst laminaları, commissura posterior ve commissura habenularis oluşturur [41]. Midsagittal düzlemde ventriculus tertius içinde recessus infundibularis, recessus supraopticus, recessus pinealis olmak üzere üç adet recessus olduğu görülmektedir [41].

Ventriculus quartus

Serebellumun önünde, medulla oblongatanın üst yarısı ve ponsun arkasında yer alan ventriculus quartus'un kaudalinde canalis centralis bulunmaktadır [41]. Eşkenar dörtgen şeklindeki tabanı fossa rhomboidea olarak adlandırılmaktadır [41]. Her iki tarafta ventriculus quartus'un üst dış kenarı pedunculus cerebellaris superior; alt dış kenarı tuberculum gracile, tuberculum cuneatum ve pedunculus cerebellaris inferior; arka duvarı olan tavanını üstte velum medullare superior ve altta ventriculus quartus'un plexus choroideus'u; ön duvarı olan tabanını fossa rhomboidea oluşturur [41]. Ventriculus quartus tavanının alt kısmında, orta hatta apertura mediana (foramen of Magendie) ile sol ve sağdaki recessus lateralis'lerin uçlarında bulunan apertura lateralis (foramen of Luschka)'ler olmak üzere üç adet açıklık bulunmaktadır [41]. Bu açıklıklar BOS'un subaraknoid aralığa geçmesini sağlar [41].

BOS

Ventriküllerde yer alan plexus choroideus tarafından üretilen ve subaraknoid aralıkta bulunan BOS, MSS'ni mekanik travmalara karşı koruyan bir yastık görevi görür. BOS'un ayrıca MSS'ndeki nöral dokuların beslenmesi, hipotalamustan salgılanan bazı hormonların hipofize ulaştırılması ve metabolitlerin uzaklaştırılması gibi görevleri de vardır [41]. Renksiz ve berrak olan BOS'ta normalde hücre bulunmaz [41]. BOS içeriğindeki maddeler açısından seruma benzer; ancak BOS'un glukoz, protein ve iyon miktarları seruma göre farklılık göstermektedir [41].

BOS dolaşımı

BOS, ventriculus lateralis'lerden foramen interventriculare'ler (foramen of Monro) aracılığıyla ventriculus tertius'a geçer ve ventriculus tertius'tan aquaductus cerebri (Sylvius kanalı) aracılığıyla ventriculus quartus'a geçer. Daha sonra ventriculus quartus'tan apertura mediana (foramen of Magendie) ve apertura lateralis'ler (foramen of Luschka) aracılığıyla beyin ve medulla spinalis çevresindeki subaraknoid aralığa geçer [41]. BOS'un fazlası, sinus sagittalis superior'un iç kısmına doğru çıkıntı oluşturan granulationes arachnoidea tarafından absorbe edilir [41]. Sürekli salgılanan BOS'un hidrostatik basıncı, venöz sinüs içerisinde oluşan basıncı aştığı takdirde granulationes arachnoidea tek yönlü geçişe izin veren bir kapak gibi çalışarak fazla miktardaki BOS'un subaraknoid aralıktan venöz dolaşıma katılmasını sağlar [41].

2.3.3. Beyin sapı (truncus encephali, truncus cerebri)

Medulla oblongata, pons ve mezensefalondan oluşan beyin sapı (truncus encephali, truncus cerebri), fossa cranii posterior'da yerleşmiştir [42]. Kök şeklinde olan beyin sapı, genişlemiş prozensefalon ile oldukça ince yapıda olan medulla spinalis'i birbirine bağlar [42]. Medulla spinalis'i prozensefalonda bulunan üst merkezlerin farklı kısımlarına bağlayan inen ve çıkan yollar için geçiş yeri olması; bilinçlilik kontrolü, kardiyovasküler kontrolü ve solunum kontrolüyle alakalı önemli refleks merkezlerini içermesi; III-XII kraniyal sinirlerin çekirdeklerini bulundurması beyin sapının üç önemli görevi arasında sayılmaktadır [42].

Medulla oblongata

Medulla oblongata (bulbus), beyin sapının en kaudal kısmında yer alır ve üst tarafta pons, alt tarafta medulla spinalis ile devamlıık gösterir [42]. Medulla oblongata ile medulla spinalis'in birleştiği yer aşağı yukarı foramen magnum seviyesinde bulunur [42]. Konik şekilli olan medulla oblongata'nın geniş olan ucu yukarı doğru yönlenmiştir [42]. Medulla oblongata'nın alt yarısının içinde medulla spinalis'in canalis centralis'i yukarı doğru ilerleyerek üst yarısının içinde dördüncü ventrikül boşluğu şeklinde genişler [42]. Medulla oblongata'nın ön yüzünde fissura mediana anterior bulunur ve bu yarığın her bir yanındaki şişkinlikler pyramis olarak isimlendirilir [42]. Serebral kortekste yer alan gyrus precentralis'teki büyük sinir hücrelerinden kaynaklanan kortikospinal lifler pyramis'leri oluşturur [42]. Aşağı gittikçe pyramis'ler incelir [42]. Aşağı inen liflerin büyük bir kısmı karşıya geçerek decussatio pyramidium adı verilen çaprazı yapar [42]. Decussatio pyramidium'un yukarısında, fissura mediana anterior'dan çıkan ve medulla oblongata'nın yüzeyinde laterale doğru ilerleyen fibrae arcuatae externae anteriores serebelluma girer [42]. Pyramis'lerin posterolateralinde bulunan nucleus olivaris inferior'lar oliva adı verilen oval şekilli kabartıları meydana getirir [42]. Pyramis ile oliva arasında yer alan oluğun içinden hipoglossal (XII) sinirin kökleri çıkar [42]. Medulla oblongata'yı serebelluma bağlayan pedunculus cerebellaris inferior'lar, oliva'ların arka tarafında bulunur [42]. Pedunculus cerebellaris inferior ile oliva arasında bulunan oluğun içinden glossofaringeal (IX) ve vagus (X) sinirinin kökleriyle aksesuar (XI) sinirin kranial kökleri çıkar [42]. Medulla oblongata'nın üst yarısının arka yüzü dördüncü ventrikülün tabanının alt kısmını oluştururken alt yarısının arka yüzü medulla spinalis'in arka yüzü ile devamlılık gösterir ve burada sulcus medianus posterior vardır [42]. Sulcus medianus posterior'un yanlarında nucleus gracilis'in oluşturduğu tuberculum gracile bulunur [42]. Tuberculum gracile'nin lateralinde nucleus cuneatus'un oluşturduğu tuberculum cuneatum bulunur [42]. Medulla oblongata'nın iç yapısı decussatio pyramidium düzeyi, decussatio lemniscorum düzeyi, oliva düzeyi ve ponsun hemen alt düzeyi olmak üzere dört düzeyde incelenir [42]. Decussatio pyramidium düzeyinden geçen transvers kesitinde nucleus gracilis, nucleus cuneatus, nucleus spinalis nervi trigemini ve nucleus nervi accessorii çekirdekleri bulunur [42]. Decussatio lemniscorum düzeyinden geçen transver kesitinde nucleus gracilis, nucleus cuneatus, nucleus spinalis nervi trigemini, nucleus nervi accessorii ve nucleus nervi hypoglossi çekirdekleri bulunur [42]. Oliva düzeyinden geçen transvers kesitinde nucleus olivaris inferior, nucleus spinalis nervi trigemini, vestibular nucleus,

glossoopharyngeal nucleus, vagal nucleus, nucleus nervi hypoglossi, nucleus ambiguus ve nucleus solitarius çekirdekleri bulunur [42]. Ponsun hemen alt düzeyinden geçen transvers kesitinde nucleus vestibularis lateralis ve nuclei cochleares çekirdekleri bulunur [42].

Pons

Serebellumun önünde yer alan ve yaklaşık olarak 2,5 cm uzunluğundaki pons, medulla oblongata'yı mezensefalona bağlar [42]. Ponsun ön yüzü dış bükeydir ve pedinculus cerebellaris medius'u meydana getirmek için her iki yanda birleşen enine lifler gösterir [42]. Orta hatta sulcus basilaris, arteria basilaris'i içerir [42]. Ponsun anterolateral yüzünde, iki yandan trigeminal (V) sinir çıkar ve her iki trigeminal sinir de küçük, medial bir parça olan radix motoria ve büyük, lateral bir parça olan radix sensoria'dan oluşur [42]. Pons ile medulla oblongata arasında bulunan oluktan abdusens (VI), fasiyal (VII) ve vestibülokoklear (VIII) sinirleri medialden laterale doğru çıkar [42]. Ponsun serebellum tarafından gizlenen arka yüzü, ventriculus quartus tabanının üçgen biçimindeki üst yarısını oluşturur [42]. Lateralden pedunculus cerebellaris superior'larla sınırlandırılan arka yüz, sulcus medianus ile simetrik yarılara ayrılır [42]. Sulcus medianus'un lateralinde eminentia medialis bulunur [42]. Lateralden sulcus limitans ile sınırlandırılan eminentia medialis'in alt ucu colliculus facialis'i meydana getirmek için hafifçe genişlemiştir [42]. Sulcus limitans'ın üst kısmının tabanı substantia ferruginea olarak isimlendirilir ve mavimsi-gri rengi bol pigmentli olan bir grup sinir hücresinden alır [42]. Sulcus limitans'ın lateralinde area vestibuli vardır ve area vestibuli, nuclei vestibulares tarafından oluşturulur [42]. Ponsun iç yapısı colliculus facialis'ten geçen kaudal bölüm transvers kesiti ve trigeminal çekirdeklerden geçen kraniyal bölüm transvers kesiti olmak üzere iki düzeyde incelenir [42]. Kaudal bölüm transvers kesitinde nucleus nervi facialis, nucleus nervi abducentis, nucleus vestibularis, nucleus tractus spinalis nervi trigemini, nuclei pontis ve nucleus corporis trapezoidei çekirdekleri bulunur [42]. Kraniyal bölüm transvers kesitinde nucleus sensorius principalis nervi trigemini, nucleus motorius nervi trigemini, nuclei ponti ve nucleus corporis trapezoidei çekirdekleri bulunur [42].

Mezensefalon

Yaklaşık olarak 2 cm uzunluğunda olan mezensefalon, pons ve serebellumu ön beyne bağlar [42]. Tentorium cerebelli açıklığından yukarı çıkarken uzun ekseni öne doğru

eğiklik gösteren mezensefalon, aqueduktus cerebri tarafından geçilir [42]. Mezensefalonun arka yüzünde dört tane colliculus vardır [42]. Colliculus'lar bir transvers ve bir vertikal olukla üst ve alt çiftlere ayrılır [42]. Colliculus superior'lar ve colliculus inferior'lar yuvarlak çıkıntılar şeklindedir [42]. Colliculus inferior'ların aşağı kısmında orta hattan troklear (IV) sinirler çıkar ve küçük çaplı olan bu sinirler sinus cavernosus'un lateraldeki duvarına girebilmek için mezensefalonun lateralinden dönen sinirlerdir [42]. Mezensefalonun lateralinde, anterolateral yönde brachium colliculi superius ve brachium colliculi inferius yükselir [42]. Brachium colliculi superius, colliculus superior'dan tractus opticus'a ve corpus geniculatum laterale'ye geçerken colliculus inferior, brachium colliculi inferius tarafından corpus geniculatum medial'e bağlanır [42]. Mezensefalonun ön yüzünde, orta hatta fossa interpeduncularis bulunur [42]. Yanlarda crus cerebri ile sınırlandırılan fossa interpeduncularis'in tabanını çok sayıda küçük kan damarı deler ve burası substantia perforata posterior şeklinde isimlendirilir [42]. Crus cerebri'nin medialindeki bir oluktan çıkan okülomotor (III) sinir, sinus cavernosus'un lateral duvarında ilerler [42]. Mezensefalon, pedunculus cerebri olarak isimlendirilen iki lateral yarıdan meydana gelir ve her biri substantia nigra aracılığıyla crus cerebri (ön bölüm)'ye ve tegmentum mesencephali (arka bölüm)'ye ayrılır [42]. Crus cerebri, önemli inen yollar bulundurmaktadır [42]. Mezensefalonda dar bir boşluk şeklinde olan aqueductus cerebri, üçüncü ve dördüncü ventrikülleri bağlar [42]. Mezensefalonun aqueductus cerebri arkasındaki parçası tectum mesencephali'dir [42]. Tectum mesencephali'de iki colliculus superior ve iki colliculus inferior olmak üzere dört tane yüzey şişkinliği vardır [42]. Ependim ile döşeli olan aqueductus cerebri, substantia grisea centralis ile sarılmıştır [42]. Mezensefalonun transvers kesitlerinde fossa interpeduncularis crus cerebri'leri ayırırken tegmentum mesencephali medyan düzlem boyunca devamlılık gösterir [42]. Mezensefalonun iç yapısı colliculi inferiores ve colliculi superiores olmak üzere iki düzeyde incelenir [42]. Colliculi inferiores düzeyinden geçen transvers kesitinde colliculus inferior, substantia nigra, nucleus nervi trochlearis ve nucleus mesencephalicus nervi trigemini çekirdekleri bulunur [42]. Colliculi superiores düzeyinden geçen transvers kesitinde colliculus superior, substantia nigra, nucleus nervi oculomotorii, Edinger-Westphal nükleusu, nucleus ruber ve nucleus mesencephalicus nervi trigemini çekirdekleri bulunur [42].

2.3.4. Serebrum

Kafatasının ön ve arka kraniyal fossalarında yerleşen ve kafatası kubbesinin tüm konkavitesini dolduran serebrum, beynin en büyük parçasıdır [42]. Serebrum; merkezi çekirdeği oluşturan diensefalon ve serebral hemisferleri oluşturan telensefalon olmak üzere iki kısma ayrılır [42].

Diensefalon

Diensefalon, üçüncü ventrikül olan ventriculus tertius'u ve ventriculus tertius'un sınırlarını meydana getiren yapıları içerir [42]. Diensefalon arka tarafta aqueductus cerebri ile devamlılık gösteren ventriculus tertius ve ön taraftaki interventriküler foramen'ler arasında uzanır, böylece diensefalon, simetrik olan sağ ve sol yarımları ile bir orta hat yapısıdır [42]. Diensefalonun ayrılmamış bütün bir beyinde görülen tek yüzü, alt yüzüdür [42]. Diensefalonun alt yüzü, hypothalamus ve önden arkaya doğru her iki tarafta bulunan tractus opticus'larla birlikte chiasma opticum, tuber cinereum'la birlikte mammiller cisimler ve infundibulum'dan meydana gelir [42]. Diensefalonun üst yüzü, kalın bir lif demeti olan fornix ile örtülüdür ve fornix, temporal lobda yer alan hippocampus'tan başlayıp thalamus'un üst tarafından arkaya doğru kemer oluşturarak mammiller cisimde son bulur [42]. Diensefalonun gerçek olan üst duvarı ise ventriculus tertius'un tavanı aracılığıyla oluşturulur ve ventriculus tertius'un ependimi ile devam eden bir ependim tabakasına sahiptir [42]. Ependim tabakası, ventriculus tertius'un tela choroidea'sı ile örtülüdür [42]. Orta hat üzerinden aşağıya doğru, ventriculus tertius'un tavanından boşluğuna ventriculus tertius'un plexus choroideus'u uzanır [42]. Diensefalonun lateral yüzü, ak maddeden oluşan capsula interna tarafından sınırlandılmıştır [42]. Diensefalon, yarık şeklindeki ventriculus tertius tarafından simetrik olarak ikiye ayrılmasına rağmen medial yüze sahiptir ve diensefalonun medial yüzü (ventriculus tertius'un lateral duvarı), üst tarafta thalamus'un medial duvarı ve alt tarafta ise hypothalamus aracılığıyla oluşturulur [42]. Bu iki alan, birbirlerinden çok da derin olmayan ve sulcus hypothalamicus adı verilen bir olukla ayrılmıştır [42]. Stria medullaris thalami şeklinde isimlendirilen sinir lifleri demeti, habenular çekirdeklerin afferent lifleridir ve diensefalonun medial yüzünün üst sınırı boyunca bir kenar oluşturur [42]. Diensefalon; thalamus, subthalamus, epithalamus ve hypothalamus olmak üzere dört ana bölüme ayrılır [42]. Thalamus, başlıca olarak duyusal sistemleri alan ve çok önemli olan bir hücre

istasyonudur [42]. Thalamus'ta duyusal bilgiler birleştirilerek serebral korteks ile diğer korteksaltı bölgelere bildirilir [42]. Nuclei rubri ve substantia nigra ile ilişkili nöronlardan meydana gelen subthalamus, kas aktivitesinin kontrolünde görev alır [42]. Epithalamus, epifiz bezi ve habenular çekirdeklerden oluşur [42]. Otonom sinir sistemi ile endokrin sistemin fonksiyonlarını kontrol edip bütünleştiren ve hayati olan vücut homeostazının korunmasında rol oynayan hypothalamus, vücuttaki neredeyse her aktiviteyi fizyolojik olarak etkiler [42].

Telensefalon

Serebral hemisferleri (hemispherium cerebri) oluşturan telensefalon, MSS'nin en büyük bölümüdür [41]. Serebral hemisferler, dışta cortex cerebri (cerebral cortex, pallium), derinde yerleşen substantia alba (substantia medullaris telencephali, ak madde, beyaz cevher) ve ventriculus lateralis'lerden meydana gelmektedir [41]. Histolojik yapı ve filogenetik gelişim açısından cortex cerebri, allocortex (heterogenic cortex) ve neocortex (neopallium, isocortex) olarak iki bölgeden oluşur [41]. Filogenetik gelişim bakımından daha eski olan allocortex ise, archicortex (archipallium) ve paleocortex (paleopallium) olarak iki kısımdan meydana gelir [41]. Cortex cerebri'nin yaklaşık %90'ını neocortex tarafından oluşturulur [41]. Archicortex, formatio hippocampi ve gyrus dentatus tarafından oluşturulurken paleocortex ise piriform cortex tarafından oluşturulur [41]. Cortex cerebri'de, motor fonksiyonların istemli bir şekilde başlatıldığı ya da sonlandırıldığı motor bölgeleri ile duyuların bilince ulaştığı duyu bölgeleri bulunmaktadır [41]. İnsanlarda ayrıca diğer canlılara kıyasla çok daha iyi gelişmiş assosiasyon bölgeleri yer almaktadır [41]. Kompleks bağlantıları sayesinde assosiasyon bölgeleri, birçok duyunun aynı anda ve edinilmiş tecrübeler ışığında değerlendirilmesi ve uygun hafızaları harekete geçirerek kişiye özgü davranışların ortaya çıkması gibi üst düzey fonksiyonların oluşturulduğu bölgelerdir [41]. Serebral hemisferlerin substantia alba'sı miyelinli lifleri, bazal ganglionları ve pars basalis telencephali'ye ait olan çekirdekleri içermektedir [41]. Serebral hemisferlerin substantia alba'sında yer alan miyelinli lifler; hemisfer içinde cortex cerebri'nin çeşitli merkezlerini, cortex cerebri'yle daha alt merkezleri ve her iki serebral hemisferde bulunan çeşitli merkezleri birbirlerine bağlar [41]. Subtantia alba'daki lifler, fonksiyonlarına göre assosiasyon lifleri (fibrae associationis telencephali), kommissural lifler (fibrae commissurae telencephali) ve projeksiyon lifleri olarak üçe ayrılır [41]. Aynı hemisferdeki kortikal sahalar assosiasyon lifleriyle birbirine bağlanırken her iki

hemisferdeki kortikal sahalar komissural liflerle birbirine bağlanır [41]. Cortex cerebri ile beyin sapı ve medulla spinalis gibi daha alt merkezler ise projeksiyon lifleri tarafından birbirine bağlanır [41].

Fissura longitudinalis cerebri, sol ve sağ serebral hemisferleri birbirinden kısmen ayırır. Fissura transversa cerebri ise serebral hemisferleri serebellumdan ayırır [41]. Fissura longitudinalis cerebri'nin içine, dura mater cranialis'in lamina interna tabakası tarafından oluşturulan falx cerebri uzanırken fisssura transversa cerebri içine, yine dura mater cranialis'in lamina interna tabakası tarafından oluşturulan tentorium cerebelli uzanır [41]. Serebral hemisferlerin dış yüzeyinde gyri cerebri (gyrus) denilen çıkıntılar ve bunların arasında sulci cerebri (sulcus) denilen girintiler bulunmaktadır [41]. Gyri cerebri'lerin ve sulci cerebri'lerin dağılımı hem aynı kişinin sol ve sağ hemisferleri arasında hem de kişiler arasında farklılık göstermektedir; ancak gelişimin erken dönemlerinde ortaya çıkan bazı sulci cerebri'ler, genel olarak herkeste belirgin bir şekilde gözlenir [41]. Her bir serebral hemisfer, sulci cerebri'lere göre lobus frontalis, lobus parietalis, lobus occipitalis, lobus temporalis, lobus insularis (insula) ve lobus limbicus olacak şekilde altı lobus'a ayrılır [41]. İçinde limbik sisteme ait olan kortikal yapıların yer aldığı lobus limbicus gerçekte ayrı bir lobus olmayıp suni olarak adlandırılmaktadır [41]. Lobus limbicus, serebral hemisferlerin medial yüzünde lobus frontalis, lobus parietalis, lobus occipitalis ve lobus temporalis'in birbiriyle devamlılık gösteren kısımları tarafından oluşturulur [41]. Serebral hemisferlerin; facies superolateralis, facies medialis ve facies inferior olmak üzere üç tane yüzü bulunmaktadır [41]. Serebral hemisferlerin dış yüzünde sulcus centralis ve sulcus lateralis olmak üzere iki belirgin sulcus yer alır [41]. Her bir serebral hemisferin üst kenarından başlayan sulcus centralis, serebral hemisferlerin dış yüzünü takip edip öne ve aşağı doğru ilerler [41]. Sulcus centralis dış yüzde lobus frontalis ve lobus parietalis arasındaki sınırı belirler [41]. Sulcus lateralis, lobus frontalis'in alt tarafı ile lobus temporalis'in ön tarafı arasından başlayıp arkaya ve yukarıya doğru ilerler [41]. Sulcus lateralis; ön tarafta lobus frontalis ve lobus temporalis'i, arka tarafta lobus temporalis ve lobus parietalis'in ön bölümünü ayırır [41]. Serebral hemisferlerin birbirine bakan yüzüne facies medialis denir ve burada en dikkat çeken yapı corpus callosum kesitidir [41]. Fissura longitudinalis cerebri'nin taban kısmında yer alan ve venriculus lateralis'in tavan kısmını örten corpus callosum, sol ve sağ hemisferi birbirine bağlar ve miyelinli liflerden oluşmaktadır [41]. Corpus callosum'dan alınan horizontal kesitte substantia alba oval görünümdedir ve centrum semiovale olarak isimlendirilir [41]. Facies inferior, sulcus

lateralis tarafından ön kısım ve arka kısım olarak ikiye ayrılır [41]. Daha küçük olan ön kısım; lobus frontalis'in altta kalan orbital yüzünü kapsarken, daha büyük olan arka kısım; lobus temporalis ile lobus occipitalis'in altta kalan yüzlerini kapsar [41].

2.3.5. Bazal ganglionlar (bazal çekirdekler, nuclei basales)

Serebral hemisferlerinin derininde, substantia alba içerisinde bazal ganglionlar olarak adlandırılan beş çift nucleus bulunmaktadır. Bu nucleus'lar gerçekte ganglion olmamakla beraber geleneksel bir şekilde bazal ganglionlar olarak isimlendirilir [41]. Değerlendirme gibi mental ve emosyonel işlevlerle ilgisi olduğu bilinen bazal ganglionlar, esas olarak motor hareketlerin koordine edilmesinde görev alan nucleus'lardır [41]. Serebellumdan farklı olarak bazal ganglionlar serebral cortex aracılığıyla motor hareketler üzerinde bir etkiye sahiptirler böylece serebelluma kıyasla daha karmaşık motor hareketlerin düzenlenmesinde rol oynarlar [41]. Bazal ganglionlar; nucleus caudatus, putamen, globus pallidus, substantia nigra ve nucleus subthalamicus olmak üzere beş çift nucleus grubundan oluşur [41]. Önceden yapılmış bir sınıflandırmaya göre; bazal ganglionlara, substantia nigra ile nucleus subthalamicus yerine corpus amygdaloideum ve claustrum ekleniyordu fakat corpus amygdaloideum'un limbik sisteme integre olması ve claustrum'un insanlardaki işlevsel öneminin bilinmemesi nedeniyle corpus amygdaloideum ve claustrum bu sınıflandırmadan çıkarılmıştır [41]. Bununla birlikte, işlevsel ilişkileri nedeniyle substantia nigra ve nucleus subthalamicus yeni sınıflandırmada bazal ganglionlara eklenmiştir [41]. Nucleus caudatus, putamen ve globus pallidus birlikte corpus striatum; putamen ve globus pallidus ise birlikte nucleus lentiformis; nucleus caudatus ve putamen birlikte neostriatum; globus pallidus ise paleostriatum olarak isimlendirilmektedir [41]. Eski sınıflandırmada yer alan corpus amygdaloideum da archistriatum olarak adlandırılmıştır [41]. Nucleus caudatus ile putamen'in ventral bölümleri, nucleus accumbens, substantia innominata ve tuberculum olfactorium birlikte striatum ventrale'yi oluşturur [41]. Pars basalis telencephali'ye ait yapılar olan nucleus accumbens, substantia innominata ve tuberculum olfactorium basal ganglionlar arasında yer almaz; ancak striatum ventrale'ye bir bütün olarak bakıldığında corpus amygdaloideum aracılığıyla limbik sistem ve globus pallidus arasında striatum ventrale'nin bağlantı sağladığı görülür [41].

Corpus amygdaloideum, lobus temporalis'te uncus'a yakın bir yerde bulunur [42]. Corpus

amygdaloideum, limbik sistemin bir parçası olarak kabul edilir ve bağlantıları sayesinde vücudun çevresel değişikliklere verdiği tepkiyi etkileyebilir. Örneğin korku duygusunda kalp atış hızını, kan basıncını, deri rengini ve solunum hızını değiştirebilir [42]. Claustrum, nucleus lentiformis'in dış yüzeyinden capsula externa ile ayrılan ince bir cevher tabakasıdır [42]. İşlevi bilinmeyen claustrum'un lateralinde insula'nın subkortikal beyaz cevheri yer alır [42].

Nucleus caudatus

Şeklen virgüle benzeyen bu nucleus caudatus; caput, corpus ve cauda olmak üzere üç kısma sahiptir [41]. Foramen interventriculare'nin önünde yer alan caput, ventriculus lateralis'in cornu anterius kısmının tabanı ve lateral duvarıyla komşudur [41]. Ön tarafı putamen ile devam eden caput'un arka tarafı capsula interna'nın crus anterius kısmıyla putamen'den ayrılmıştır [41]. Corpus arkaya doğru incelerek ilerler ve ventriculus lateralis'in pars centralis kısmının tabanında bulunur [41]. Uzunluğu boyunca corpus, thalamus'un dorsolateral bölümüne yapışıktır [41]. Nucleus caudatus'un corpus kısmı ve thalamus arasında yer alan oluğa sulcus terminalis denilmektedir [41]. Sulcus terminalis'in içerisinde, stria terminalis ve vena thalamostriata bulunur [41]. Cauda, ventriculus lateralis'in cornu inferius kısmının tavanında öne doğru ilerleyerek corpus amygdaloideum'da sonlanır [41]. Fonksiyonel bir yapı olan neostriatum'u oluşturan nucleus caudatus'un ve putamen'in afferent ve efferent bağlantıları aynıdır [41]. Neostriatum'un bütün afferentleri; cerebral cortex'in bütün bölgelerinden, substantia nigra'nın pars compacta kısmından, nuclei intralaminares thalami'den, nucleus raphealis posterior'dan ve corpus amygdaloideum'un nucleus amygdalae basalis lateralis'inden gelir [41]. Neostriatum'un efferentleri ise globus pallidus medialis'e ve substantia nigra'nın iki kısmına gider [41].

Nucleus lentiformis

Transvers kesitlerde nucleus lentiformis'in, daha büyük, koyu renkli ve lateralde yer alan putamen ile açık renkli, daha küçük ve medialde yer alan globus pallidus'tan meydana geldiği gözlenir [41]. Nucleus lentiformis; medialde capsula interna'nın crus anterius kısmıyla nucleus caudatus'tan ve crus posterius kısmıyla thalamus'tan ayrılırken, lateralde capsula externa ile claustrum'dan ayrılır [41].

Putamen

Putamen'in dış yüzü, hafif konvekstir [41]. Capsula externa ve globus pallidus arasında yer alan putamen, nucleus caudatus'un corpus kısmının alt ve dış kısmında bulunur [41].

Globus pallidus

Lateralde globus pallidus, lamina medullaris lateralis olarak isimlendirilen miyelinli aksonlar tarafından putamen'den ayrılır [41]. Globus pallidus, lamina medullaris interna (lamina medullaris medialis) olarak adlandırılan miyelinli aksonlardan oluşan bir şeritle globus pallidus lateralis ve globus pallidus medialis olmak üzere iki bölüme ayrılır [41]. Globus pallidus'un afferentleri nucleus subthalamicus'tan, neostriatum'dan ve substantia nigra'nın pars compacta kısmından gelirken efferentleri ise ansa lenticularis, fasciculus lenticularis, fasciculus thalamicus ve fasciculus subthalamicus olmak üzere dört demet meydana getirir [41].

Substantia nigra

Mezensefalonda crus cerebri ve tegmentum arasında bulunan substantia nigra, kendisini oluşturan nöronların melanin pigmenti içermesi nedeniyle çevresindeki yapılardan daha koyu renkte görünür [41]. Substantia nigra, pars retikülata ve pars compacta olmak üzere iki bölüme ayrılır [41]. Ventral yerleşimli olan ve daha açık renkli görünen bölümüne pars reticulata; dorsal yerleşimli olan ve daha koyu renkli görünen bölümüne pars compacta adı verilir [41]. Substantia nigra'nın çoğu afferenti neostriatum'dan gelir ve bu liflerin büyük bir kısmı substantia nigra'nın pars reticulata bölümünde, diğer bir kısmı da substantia nigra'nın pars compacta bölümünde sonlanır [41]. Substantia nigra'nın pars compacta bölümündeki dopaminerjik sinir hücrelerinden başlayan efferent lifler neostriatum'a giderken pars reticulata bölümündeki GABA-erjik sinir hücrelerinden başlayan efferent lifler thalamus'a, colliculus superior'a ve nucleus tegmentalis pedunculopontinus'a gider [41]. Kas tonusuyla ilgili olan substantia nigra; serebral korteks, bazal çekirdekler, hypotalamus ve medulla spinalis ile bağlantılıdır [42].

Nucleus subthalamicus

Subthalamus'ta nucleus'lar arasında en altta bulunan nucleus subthalamicus, subthalamus ve mezensefalonun tegmentum'u arasında bulunan geçiş bölgesine kadar uzanır [41]. Nucleus subthalamicus; capsula interna'nın medialinde, substantia nigra'nın üst ucunun dorsolateralinde ve hypothalamus'un üst tarafının lateralinde yerleşmiştir [41]. Nucleus subthalamicus'un afferentleri, büyük bir kısmı globus pallidus lateralis'ten olmak üzere nucleus parafascicularis, nucleus centromedianus ve nucleus tegmentalis pedunculopontinus'tan başlar [41]. Nucleus subthalamicus'tan başlayan efferentler, globus pallidus'un segmentlerine ve substantia nigra'ya gider [41].

2.3.6. Beyin damarları

Beyin, arteria carotis communis'in iki uç dalından biri olan arteria carotis interna ve arteria subclavia'nın birinci parçasından çıkan arteria vertebralis ile bunların oluşturduğu circulus arteriosus cerebri (Willis poligonu)'den çıkan arterler tarafından beslenir [41]. Sol ve sağ arteria vertebralis'ler ponsun alt kenarı hizasında birleşerek arteria basilaris'i oluşturur [41]. Circulus arteriosus cerebri'yi oluşturan arterlerden çıkan dallar cortical dallar ve central dallar olarak iki gruba ayrılır [41]. Beyin hemisferlerinin kortikal kısımlarını besleyen ve birbiriyle bağlantılı pleksuslar oluşturan kortikal dallar; arteria cerebri anterior, arteria cerebri media ve arteria cerebri posterior'dan çıkar [41]. Circulus arteriosus cerebri'yi oluşturan arterlerin ince uç dalları olan ve aralarında anastomoz bulunmayan central dallar; diensefalon, nuclei basales, capsula interna gibi beynin derin kısımlarındaki dokuları besler [41]. Central arterler; anteromedial, anterolateral, posteromedial ve posterolaterale olarak dört gruba ayrılır [41].

Beyin dokusunda bulunan ve venöz pleksuslar oluşturan küçük venler, subaraknoid aralıktaki daha büyük olan cerebral venlere açılırlar [41]. Bu venler, dura mater'in meningeal ve periosteal yaprakları arasında bulunan venöz sinüslere açılırlar [41]. Cerebral venler, venae superficales cerebri ve venae profundae cerebri olmak üzere iki grupta incelenir [41].

2.4. Beyincik Anatomisi

Beyinciğin ya da serebellumun ağırlığı, MSS'nin yaklaşık olarak 1/10'unu oluştursa da serebellumdaki nöronların sayısı MSS'nde bulunan tüm nöronların yarısından fazladır [41].

2.4.1. Beyinciğin morfolojisi

Serebellum, fossa cranii posterior'da yer alır ve tentorium cerebelli tarafından superior olarak örtülür [42]. Arka beynin en büyük parçası olan serebellum; yukarda tentorium cerebelli aracılığıyla lobus occipitalis, önde ventriculus quartus aracılığıyla pons ve medulla oblongata ile komşudur [41, 42]. Biraz oval şekilli olan serebellum, orta kısmında daralmıştır [42]. Serebellum, solda ve sağda hemispherium cerebelli olarak adlandırılan iki adet hemisfer ile orta hatta vermis cerebelli olarak adlandırılan dar bir parçadan oluşur [41]. Hemisferler ile vermis arasındaki sınır, alt yüzde daha belirgin bir şekilde görülür ve bu yüzde hemisferler arasında vallecula cerebelli olarak adlandırılan geniş bir aralık vardır [41]. Sol ve sağ hemisfer arasında, önde incisura cerebelli anterior ve arkada incisura cerebelli posterior olarak adlandırılan çentikler vardır [41]. Dura mater uzantısı olan falx cerebelli, incisura cerebelli posterior'da yerleşmiştir [41]. Serebellum hemisferlerinin dış yüzünde folia cerebelli olarak adlandırılan çok sayıda kıvrım vardır ve bunların arasında fissurae cerebelli olarak adlandırılan yarıklar bulunur [41].

Serebellum; lobus anterior, lobus media ve lobus flocculonodularis olmak üzere üç loba ayrılır [42]. Lobus anterior serebellumun üst yüzündedir ve lobus media (lobus posterior)'dan fissura prima adı verilen V şeklindeki geniş bir fissür ile ayrılır [42]. Serebellumun en büyük kısmı olan lobus media, fissura prima ve fissura uvulonodularis arasında yer alır [42]. Lobus flocculonodularis, fissura uvulonodularis'in arkasında yer alır [42]. Serebellumun kenarı boyunca bulunan derin yatay bir fissür, superior ve inferior yüzeyleri birbirinden ayırır; ancak morfolojik ya da işlevsel bir önemi yoktur [42]. Lobus cerebelli anterior; vermis cerebelli'nin culmen, lobus centralis ve lingula cerebelli kısımları ile hemispherium cerebelli'nin lobulus quadrangularis ve lobulus centralis kısımlarından oluşur [41]. Lobus cerebelli posterior; vermis cerebelli'nin folium vermis, declive, pyramis, tuber vermis ve uvula kısımları ile hemispherium cerebelli'nin lobulus seminularis superior, lobulus seminularis inferior, lobulus simplex, lobulus biventer,

lobulus paramedianus ve tonsilla cerebelli kısımlarından oluşur [41]. Lobulus seminularis superior ile lobulus seminularis inferior arasında bulunan fissura horizontalis aynı zamanda serebellumun üst ve alt yüzlerini birbirinden ayıran bir sınır meydana getirir [41]. Lobus flocculonodularis; vermis cerebelli'nin nodulus vermis kısmı ile hemispherium cerebelli'nin flocculus ve pedunculus flocculi kısımlarından oluşur [41].

2.4.2. Beyinciğin iç yapısı

Serebellum kesitlerinde, dış tarafta cortex cerebelli ve iç tarafta corpus medullare cerebelli olarak iki kısım incelenir [41]. Cortex cerebelli'de farklı nöron grupları yer almaktadır ve burası dıştan içe doğru stratum moleculare, stratum purkinjense ve stratum granulosum olarak adlandırılan üç tabakadan oluşur [41]. Serebellumun efferent ve afferent liflerinin geçiş yaptığı aksonların bulunduğu corpus medullare cerebelli'de ayrıca nuclei cerebelli olarak isimlendirilen ve orta hattın her iki yanında yerleşmiş durumda olan dört çift nucleus bulunur [41]. Corpus medullare cerebelli'de medialden laterale doğru nuclei cerebelli; nucleus fastigii, nucleus globosus (nucleus interpositus posterior), nucleus emboliformis (nucleus interpositus anterior) ve nucleus dentatus şeklinde sıralanır [41].

Serebellum kesitlerinde, corpus medullare cerebelli kısmı ile bunun etrafında yer alan cortex cerebelli kısmı, bir ağacın dallarını anımsattığı için birlikte oluşturdukları görünüme arbor vitae (hayat ağacı) adı verilmektedir [41].

<u>Pedunculi cerebellares</u>

MSS'nin çeşitli kısımları ile serebellum arasında uzanan yollar pedunculi cerebellares olarak isimlendirilen yapıları meydana getirir [41].

Pedunculus cerebellaris superior; serebellum ile mezensefalonu birbirine bağlar [41]. Pedunculus cerebellaris superior'da; nucleus globosus (nucleus interpositus posterior), nucleus emboliformis (nucleus interpositus anterior) ve nucleus dentatus'tan başlayan efferent lifler, colliculus inferior ve nucleus ruber'den gelen afferent liflerle tractus spinocerebellaris anterior bulunur [41]. Colliculus inferior seviyesinde, pedunculus cerebellaris superior'daki lifler çapraz yapmaktadır [41].

Pedunculus cerebellaris medius; serebellum ile ponsu birbirine bağlar [41. Pedunculus cerebellaris medius'ta, nuclei pontis aracılığıyla cerebral cortex'ten başlayarak serebelluma giden fibrae pontis transversae bulunmaktadır [41.

Pedunculus cerebellaris inferior; serebellumu medulla oblongata'ya bağlar [41]. Sadece afferent lifler içeren corpus restiforme olarak adlandırılan yapı, pedunculus cerebellaris inferior'dan geçen tractus spinocerebellaris anterior liflerinin bir kısmı, tractus spinocerebellaris posterior, tractus olivocerebellaris ve tractus cuneocerebellaris tarafından oluşturulmaktadır [41]. Pedunculus cerebellaris inferior'da; bazı retiküler nucleus'larla birlikte serebellumdan başlayarak nuclei vestibulares ve çeşitli retiküler nucleus'lara giden efferent lifler, nuclei vestibulares'ten başlayarak serebelluma gelen afferent lifler bulunmaktadır. Bu lifler corpus juxtarestiforme olarak adlandırılan yapıyı oluşturmaktadır [41].

2.4.3. Beyincik afferent lifleri

Serebelluma gelen afferent lifler; nuclei pontis aracılığıyla cerebral cortex'ten, medulla spinalis'ten, colliculus superior'dan, colliculus inferior'dan, nuclei olivares inferiores'ten, nuclei vestibulares'ten, nucleus cuneatus accessorius'tan ve bazı retiküler nucleus'lardan başlar [41].

2.4.4. Beyincik efferent lifleri

Serebellumun efferent liflerinin çoğunluğu nuclei cerebelli'den başlarken bir kısmı da cortex cerebelli'den başlar [41]. Genel olarak, pedunculus cerebellaris superior'dan geçen bu lifler nuclei olivares inferiores, nuclei vestibulares, nucleus ruber, bazı retiküler nucleus'lar, thalamus ve medulla spinalis'e gider [41]. Serebellumun diğer efferentlerinden farklı bir şekilde nucleus fastigii'den başlayan efferentlerin çoğunluğu pedunculus cerebellaris superior'dan geçmeyip serebellumda çapraz yapan fasciculus uncinatus cerebelli'yi meydana getirir [41]. Ventriculus quartus'un lateralinden geçen fasciculus uncinatus cerebelli, bazı retiküler nucleus'lar ve nuclei vestibulares'te sonlanır [41].

2.4.5. Beyincik damarları

Serebellum arteria superior cerebelli, arteria anterior inferior cerebelli ve arteria posterior inferior cerebelli tarafından beslenir [41]. Serebellumun, üst kısmının venleri vena magna cerebri ve alt kısmının venleri ise sinus rectus ve sinus transversus'a dökülür [41].

2.5. Merkezi Sinir Sistemi Histolojisi

MSS, kraniyal boşlukta bulunan beyin (on iki çift kraniyal sinirle birlikte) ve vertebral kanalda bulunan spinal korddan (otuz bir çift spinal sinirle birlikte) oluşur [43-46]. Kafatası ve vertebralar tarafından korunan MSS, meninks adı verilen üç bağ dokusu yapısındaki zar ile çevrilidir [43-45]. Beyin ve spinal kord esasen iki iç meningeal tabaka arasındaki boşluğu kaplayan BOS içinde yüzer [43]. Beyin ayrıca serebrum, serebellum ve spinal kord ile bağlanan beyin sapı olarak alt bölümlere ayrılır [43].

Beynin serebrum ve serebellum bölümlerinde gri madde (gri cevher) bir dış kabuk veya korteks oluştururken beyaz madde (beyaz cevher) ise bir iç merkez veya medulla oluşturur [43, 44]. Spinal kordda bunun tam tersi geçerlidir ve beyaz madde periferde bulunurken, gri madde derinde yer alır ve enine kesitte bir H şekli oluşturur [44]. Beynin en dış tabakasını meydana getiren serebral kortekste sinir hücresi gövdeleri, aksonların miyelinsiz kısımları, dendritler ve merkezi glial hücreleri yer almaktadır ayrıca serebral korteks sinapsların bulunduğu kısımdır [43, 44]. Aksonlar, dendritler ve nöroglial uzantılar nöropil adı verilen yumaklaşmış bir sinir dokusu ağı oluşturur [43, 44]. Nöropil, hematoksilen ve eozin (H&E) ile boyanarak hazırlanmış preparatlarda incelenemez bu yüzden gri maddenin hücresel organizasyonunu detaylı bir şekilde incelemek için H&E boyama yöntemi dışındaki yöntemlerin kullanılması gerekir [43]. Diseksiyonu yeni yapılmış bir beyinde, serebral korteks gri bir renge sahiptir, bu nedenle gri madde olarak adlandırılır [43, 44]. Korteksten başka serebrum ve serebellumun derin bölgelerinde nükleus adı verilen gri madde adaları bulunur [43, 44]. Diseksiyonu yeni yapılmış beyinde aksonlar beyaz göründüğü için beyaz madde olarak da isimlendirilen iç merkez veya medullada çoğunlukla miyelinli sinir lifleriyle birlikte bazı miyelinsiz lifler ve bunlarla ilişkili merkezi glial hücreler ile kan damarları yer alır [43, 44]. Bu aksonlar sinir sisteminin bir bölümünden diğerine gider [43]. Belirli bir yere giden ya da belirli bir yerden gelen aksonların çoğu traktus adı verilen işlevsel olarak ilişkili demetler halinde gruplandırılmış

olsa da traktusların kendileri belirgin demetler olarak göze çarpmaz [43]. MSS'nin beyaz maddesinde bir traktusun gösterilmesi, traktuslarda bulunan liflerin hücre gövdelerinin tahrip edilmesi gibi özel bir prosedür gerektirir [43]. Hasarlı lifler uygun boyama veya etiketleme yöntemleri kullanılarak görüntülenebilir ve ardından izlenebilir [43]. Traktusların gruplaşmasının en belirgin olduğu spinal kordda dahi komşu traktuslar arasında belirgin sınırlar bulunmaz [43]. Beyin sapı net bir şekilde gri madde ve beyaz madde bölgelerine ayrılmamıştır fakat beyin sapında yer alan kranial sinirlerin nükleusları, az çok belirgin olan beyaz madde bölgeleriyle çevrelenmiş adalar gibi görünür [43]. Nükleuslar, kranial sinirlerin motor nöronlarının hücre gövdelerini içerir ve spinal kordun ön boynuzlarının hem morfolojik hem de fonksiyonel karşılıklarıdır [43]. Beyin sapının diğer bölgelerinde, retiküler formasyona benzer şekilde beyaz madde ile gri madde arasındaki ayrım çok daha belirsizdir [43].

2.5.1. Nöron

Sinir sisteminin yapısal ve işlevsel birimi nörondur [43, 45, 46]. İnsan sinir sistemi, 10 milyardan fazla nöron içerir [43]. Nöronlar, vücuttaki herhangi bir hücre grubunun boyut ve şekli bakımından en büyük çeşitliliği göstermesine rağmen duyusal nöronlar, motor nöronlar ve ara nöronlar olarak üç genel kategoride gruplandırılabilirler [43-45].

Duyusal nöronlar reseptörlerden MSS'ye impuls iletir. Duyusal nöronların uzantıları somatik ve visseral afferent sinir liflerine dahildir. Somatik afferent lifler vücut yüzeyinden gelen ağrı, sıcaklık, dokunma ve basınç hislerini iletir. Ayrıca, bu lifler beyne vücudun ve uzuvların oryantasyonu ile ilgili bilgi sağlamak için vücuttaki organlardan (örn. kaslar, tendonlar ve eklemler) ağrı ve propriyosepsiyon (bilinç dışı duyum) iletir. Viseral afferent lifler iç organlardan, bezlerden, müköz membranlardan ve kan damarlarından gelen ağrı uyarılarını ve diğer hisleri iletir [43-45].

Motor nöronlar, MSS veya gangliyonlardan gelen impulsları efektör hücrelere iletir. Motor nöronların uzantıları somatik ve visseral efferent sinir liflerine dahildir. Somatik efferent nöronlar tarafından iskelet kaslarına istemli impulslar gönderilirken visseral efferent nöronlar tarafından düz kaslara, kardiyak iletim hücreleri olan Purkinje liflerine ve salgı bezlerine istemsiz impulslar gönderilir [43-45].

İnterkalar nöronlar olarak da isimlendirilen internöronlar (ara nöronlar), duyusal ve motor nöronlar arasında bir iletişim ve entegrasyon ağı oluşturur. Tüm nöronların %99,9'undan fazlasının bu bütünleştirici ağa ait olduğu tahmin edilmektedir [43-45].

Bir nöronun işlevsel bileşenleri arasında hücre gövdesi (perikaryon), akson, dendritler ve sinaptik bağlantılar bulunur [43-46]. Bir nöronun hücre gövdesi çekirdeği ve hücreyi ayakta tutan organelleri içerir [43, 44, 46]. Hücre gövdesinden çıkan uzantılar tüm nöronların tek ortak yapısal özelliğini oluşturur [43]. Nöronların çoğunda, genellikle hücreden çıkan en uzun uzantı olan ve impulsları hücre gövdesinden özelleşen bir terminale (sinaps) ileten yalnızca bir akson bulunur [43-46]. Sinaps, başka bir nöron veya bir efektör hücre (örneğin, bir kas hücresi veya glandüler epitelyal hücre) ile temas kurar [43-45]. Bir nöron genellikle çok sayıda dendrite, yani çevreden (yani diğer nöronlardan) gelen impulsları hücre gövdesine doğru ileten daha kısa uzantılara sahiptir [43-46]. Nöronlar, hücre gövdesinden çıkan uzantıların sayısına göre sınıflandırılır [43-46]. Çoğu nöron; multipolar nöronlar, bipolar nöronlar ve psödounipolar nöronlar şeklinde anatomik olarak karakterize edilebilir [43-46].

Multipolar nöronlar, bir akson ve iki ya da daha fazla dendrite sahiptir. İmpulsların yönü dendritten hücre gövdesine ve buradan da aksona ya da hücre gövdesinden aksonadır. İşlevsel olarak, multipolar nöronların dendritleri ile hücre gövdesi hücrenin reseptör kısımlarıdır ve plazma membranları impuls üretimi için özelleşmiştir. Akson, hücrenin iletici kısmıdır ve plazma membranı impuls iletimi için özelleşmiştir. Aksonun terminal kısmı olan sinaptik sonlanma, sinapsta salınan küçük moleküller olan diğer nöronların yanı sıra kas hücrelerini ve glandüler epiteli etkileyen çeşitli nörotransmitterleri içerir. Motor nöronlar ve internöronlar sinir sistemindeki multipolar nöronların çoğunu oluşturur [43-46].

Bipolar nöronlar bir akson ve bir dendrite sahiptir. Nadir bulunan bipolar nöronlar çoğunlukla özel duyu (görme, koku, işitme, tat ve denge) reseptörleriyle ilişkilidirler. Genellikle gözün retinasında ve kulağın vestibülokoklear sinirinin (VIII. kraniyal sinir) gangliyonlarında bulunurlar. Bu gruptaki bazı nöronlar yukarıdaki genellemelere uymaz. Örneğin, retinanın amakrin hücrelerinin aksonları yoktur ya da olfaktör reseptörler yüzeyel bir konumda bulunmaları ve diğer nöronlardan çok daha yavaş bir oranda yenilenmeleri bakımından primitif sinir sistemlerinin nöronlarına benzer [43-46].

Psödounipolar (unipolar) nöronların tek bir uzantısı vardır, bu da hücre gövdesine yakın bir yerde iki uzun aksonal dala ayrılan aksonlardır. Dallardan biri perifere, diğeri ise MSS'ye uzanır. İki aksonal dal da iletici birimleridir. İmpulslar, hücrenin reseptör kısımları olan nöronun periferik arborizasyonlarında (dallarında) üretilir. Her bir psödounipolar nöron, aksonu ve dendriti hücre gövdesi etrafında göç edip tek bir uzantı halinde kaynaşan bipolar bir nörondan gelişir. Psödounipolar nöronların çoğunluğu, MSS'nin yakınında bulunan ve hücre gövdeleri dorsal kök gangliyonları ile kraniyal sinir gangliyonlarında yer alan duyusal nöronlardır [43-46].

Hücre gövdesi

Bir nöronun hücre gövdesi protein üreten bir hücrenin özelliklerine sahiptir [43, 44]. Nöronun hücre gövdesi; belirgin nükleoluslu, büyük, ökromatik bir nükleus ve nükleusu çevreleyen perinüklear sitoplazmayı bulunduran genişlemiş bölgesidir [43-45]. Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile gözlemlendiğinde perinüklear sitoplazmanın bol miktarda granüllü endoplazmik retikulum (gER) ve serbest ribozomları içerdiği görülür, bu da protein sentez aktivitesi ile tutarlı bir özelliktir [43-45]. Ribozomal içerik ışık mikroskobu ile incelendiğinde; bazik boyalarla koyu renkte boyanan, tiyonin boyalarıyla metakromatik boyanma özelliği gösteren ve Nissl cisimcikleri olarak adlandırılan küçük cisimcikler şeklinde görünür [43]. Her bir Nissl cisimciği bir gER yığınına karşılık gelir [43]. Perinüklear sitoplazma ayrıca büyük bir perinükleer Golgi aygıtı, çok sayıda mitokondriyon, lizozomlar, nörofilamentler (ara filamentler), mikrotübüller, taşıma vezikülleri ve inklüzyonlar (melanin granülleri, lipid damlacıkları, lipofuskin gibi) bulundurur [43-45]. Dendritlere uzanabilen Nissl cisimcikleri ve serbest ribozomlar aksonun içine uzanmaz [43]. Akson tepeciği olarak adlandırılan bölge hücre gövdesinin aksona uzandığı kısımdır ve bu bölge büyük sitoplazmik organellerden yoksundur [43]. Akson tepeciği hem ışık mikroskobu hem de TEM preparatlarında akson ve dendritleri ayırt etmek için kullanılan bir işaret noktası görevi görür [43]. Büyük nükleoluslu ökromatik nükleus, belirgin Golgi aygıtı ve Nissl cisimciklerin varlığı bu büyük hücrelerin devamlılığı için gereken yüksek anabolik aktivite seviyesini göstermektedir [43].

Nöronlar çoğalmasa da nöronların hücre altı bileşenleri düzenli olarak yenilenir ve bu bileşenler saatler, günler ve haftalarla ölçülen yaşam sürelerine sahiptir [43].

Nörotransmitter maddelerin, membran bileşenlerinin, enzimlerin ve diğer kompleks moleküllerin sürekli olarak yenilenmelerine duyulan ihtiyaç, yüksek düzeyde sentetez aktivitesinin karakteristik morfolojik özellikleriyle tutarlıdır [43]. Yeni sentezlenen protein molekülleri, aksonal transport olarak adlandırılan bir süreçle nöron içindeki uzak konumlara taşınır [43].

Genellikle sinir hücrelerinin bölünmediği kabul edilse de son zamanlarda yetişkin beyninde, rejenerasyon potansiyeli gösteren bazı hücrelerin korunduğu gösterilmiştir [43]. Beynin olfaktör bulbus ve hipokampusun dentat girusu gibi belirli bölgelerinde, bu nöral kök hücreler bölünebilir ve yeni nöronlar üretebilir [43]. Bu hücreler, histokimyasal yöntemlerle tanımlamalarında da kullanılan nestin adı verilen bir ara filament proteininin uzun süreli ekspresyonuyla karakterize edilirler [43]. Nöral kök hücrelerin ayrıca yaralanma bölgelerine göç edebildikleri ve yeni sinir hücrelerine farklılaşabildikleri söylenmektedir [43]. Hayvan modeli üzerinde yapılan araştırmalar, yeni üretilen hücrelerin yetişkin memeli beyninde işlevsel nöronlara dönüştüğünü göstermektedir [43]. Bu bulgular, Parkinson ve Alzheimer hastalıkları gibi nörodejeneratif bozukluklarda kaybedilen veya hasar gören sinir hücrelerinin yerine nöral hücrelerin kullanıldığı tedavi stratejilerine yol açabilir [43].

Dendritler ve aksonlar

Dendritlerin ana işlevi dış çevreden veya diğer nöronlardan gelen bilgiyi almak ve bunu hücre gövdesine taşımaktır [43]. Genel olarak hücre gövdesinin yakınında bulunan dendritler aksonlardan daha büyük bir çapa sahiptirler, miyelinsiz olup genellikle konik uçlara sahiptirler ve dendritik ağaç adı verilen birçok dallanma meydana getirirler [43-45]. Dendritik ağaçlar bir nöronun reseptör yüzey alanını önemli ölçüde artırır [43]. Birçok nöron tipi, dendritik ağaçlarının kapsamı ve şekli ile karakterize edilir [43, 44]. Genel olarak, hücre gövdesinin perinüklear sitoplazması ile dendritlerin sitoplazmasının içeriği, Golgi aygıtı haricinde benzerdir [43-45]. Ribozomlar ve gER dahil olmak üzere hücre gövdesinin karakteristik diğer organelleri dendritlerde, özellikle de dendritlerin tabanında bulunur [43].

Aksonun ana işlevi bilgiyi hücre gövdesinden başka bir nörona ya da kas hücresi gibi bir efektör hücreye iletmektir [43]. Her nöronun yalnızca bir aksonu vardır ve bu akson son

derece uzun olabilir [43-45]. MSS'nin motor çekirdeklerinde bulunan Golgi tip I nöronlar olarak adlandırılan nöronlardan çıkan aksonlar, bir metreden daha fazla yol katederek efektör hedefleri olan iskelet kasına ulaşabilir [43, 46]. Buna karşılık, MSS'deki Golgi tip II nöronlar olarak adlandırılan internöronlar çok kısa aksonlara sahiptir [43, 46]. Her ne kadar bir akson, hücre gövdesinin yakınında hücre gövdesine doğru geri dönen bir dal ve başka yan dallar verse de en çok hedeflerinin yakınında dallanma yaparlar [43].

Akson, akson tepeciği adı verilen bölgeden başlar ve akson tepeciği Nissl cisimcikleri ve Golgi aygıtı gibi büyük sitoplazmik organellerden yoksundur; ancak nörofilamentler, mikrotübüller, mitokondri ve veziküller akson tepeciğinden aksonun içine geçer [43, 44]. Akson tepeciğinin apeksi ile miyelin kılıfının başlangıcı arasında kalan akson bölgesi başlangıç segmenti olarak adlandırılmaktadır ve bu bölge aksiyon potansiyelinin oluşturulduğu bölgedir [43-45]. Aksiyon potansiyeli, dendritler veya hücre gövdesi tarafından diğer impulslar alındıktan sonra hücre gövdesinin membranı üzerinden akson tepeciğine taşınan impulslar ile başlatılır [43).

Yapısal ve işlevsel protein moleküllerinin neredeyse tamamı sinir hücresi gövdesinde sentezlenir [43-45]. Bu moleküller aksonal transport sistemleri aracılığıyla aksonlara ve dendritlere dağıtılır [43-45]. Bununla birlikte, sinir hücresi gövdesinin protein sentezinin tek yeri olduğu yönündeki yaygın görüşün aksine, son çalışmalar aksonal proteinlerin lokal sentezinin bazı büyük sinir terminallerinde gerçekleştiğini göstermektedir [43]. Bazı vertebral akson terminalleri (yani retinadan gelenler) protein sentezi için gerekli olan translasyon mekanizmasına sahip poliribozomlar içerir [43]. Periaksoplazmik plaklar olarak adlandırılan akson terminalleri içindeki bu ayrı alanlar, aktif protein sentezinin moleküler ve biyokimyasal özelliklerine sahiptir [43]. Periaksoplazmik plaklar içindeki protein sentezi nöronal aktivite ile modüle edilir [43]. Bu proteinler nöronal hücre hafızası süreçlerine dahil olabilir [43].

Sinapslar

Sinapslar, impulsların presinaptik olan bir nörondan postsinaptik olan başka bir nörona iletilmesini kolaylaştıran ve nöronlar arasında bulunan özelleşmiş bağlantılardır [43, 44, 46]. Sinapslar ayrıca aksonlar ile efektör hücreler (kas ve bez hücreleri gibi hedef hücreler) arasında da yer alır [43, 44]. Nöronlar arasındaki sinapslar; aksodendritik, aksosomatik ve

aksoaksonik olmak üzere morfolojik olarak sınıflandırılabilir [43, 44, 46].

Aksodendritik sinapslar, aksonlar ve dendritler arasında bulunur [43, 44, 46]. MSS'deki bazı aksodendritik sinapslar, aktin filamentleri içeren dinamik bir çıkıntı olan dendritik dikenlere sahiptir [43]. Uzun süreli hafıza ve öğrenme ile ilişkilidirler [43].

Aksosomatik sinapslar, aksonlar ve hücre gövdesi arasında bulunur [43, 44, 46].

Aksoaksonik sinapslar, iki akson arasında bulunur [43, 44, 46].

Dendrodendritik sinapslar, iki dentrit arasında bulunur [44].

Rutin H&E boyaması yapılan preparatlarda, sinapslar ayırt edilemez; ancak Golgi metodu gibi gümüş çöktürme yöntemlerinin kullanılmasıyla hem bazı nöronların genel şekli incelenebilir hem de sinapslar reseptör nöronun yüzeyinde oval cisimler olarak görülebilir [43]. Tipik bir şekilde presinaptik bir akson, postsinaptik bir nöronun reseptör kısmı ile düğme benzeri temaslardan birkaçını yapar [43]. Genellikle, presinaptik nöronun aksonu postsinaptik nöronun yüzeyi boyunca ilerler ve yol boyunca “boutons en passant” olarak adlandırılan birkaç sinaptik temas yapar [43, 44]. Daha sonra akson devam edip sonunda genişlemiş uçlu bir terminal dal, bir bouton terminali veya “end bulb” olarak sona erer [43, 44]. Bir nöron veya nöronun uzantıları üzerindeki sinaps sayısı, nöron başına birkaç ila on binler arasında değişebilir ve bu durum söz konusu nöronun aldığı ve işlediği impuls sayısıyla doğrudan ilişkili görünmektedir [43].

Sinapslar, sinir impulslarının iletim mekanizmasına ve aksiyon potansiyelinin hedef hücrelerde oluşturulma şekline göre kimyasal sinapslar ve elektriksel sinapslar olarak sınıflandırılabilir [43, 44].

Elektriksel sinapslar omurgasızlarda yaygındır. Elektriksel sinapslar, hücreler arasında iyonların hareketine izin veren ve sonuç olarak elektrik akımının bir hücreden diğerine doğrudan yayılmasını sağlayan oluklu bağlantıları içerir. Bu sinapslar nörotransmitterlere ihtiyaç duymaz. Elektriksel sinapsların memelilerdeki eşdeğerleri düz kas ve kalp kası hücrelerinde bulunan oluklu bağlantılardır. Elektriksel sinapslarda impuls iletimi, kimyasal sinapslara göre çok daha hızlıdır [43, 44].

Kimyasal sinapslarda impulsların iletimi, presinaptik nörondan nörotransmitter adı verilen kimyasal maddelerin salınmasıyla sağlanır. Nörotransmitterler daha sonra presinaptik nöron ile postsinaptik nöron veya hedef hücre arasında bulunan dar, interselüler aralık boyunca difüze olurlar. Ribbon sinapslar olarak adlandırılan özel bir kimyasal sinaps türü, iç kulaktaki reseptör tüy hücrelerinde ve retinadaki fotoreseptör hücrelerde bulunur. Tipik bir kimyasal sinaps; presinaptik bir element, sinaptik yarık ve postsinaptik membran içermektedir [43, 44].

Presinaptik element (presinaptik düğme, presinaptik bileşen veya sinaptik buton), nörotransmitterlerin salındığı nöron uzantısının ucudur. Presinaptik eleman, çapı 30 ila 100 nm arasında değişen ve nörotransmitter içeren, membrana bağlı yapılar olan sinaptik veziküllerin varlığı ile karakterize edilir. Sinaptik veziküllerin presinaptik plazma membranına bağlanmasına ve füzyonuna SNARE adı verilen bir transmembran protein ailesi aracılık eder. Bu aktivitede yer alan spesifik SNARE proteinleri v-SNARE (veziküle bağlı) ve t-SNARE (presinaptik membranın özelleşmiş bölgelerinde bulunan hedef membrana bağlı proteinler) olarak bilinir. Sinaptotagmin 1 adı verilen veziküle bağlı başka bir protein daha sonra SNARE kompleksinin yerini alır ve bu kompleks daha sonra NSF/SNAP25 protein kompleksleri tarafından sökülür ve geri dönüştürülür. Yoğun protein birikimleri, presinaptik plazma membranının, sitoplazmik tarafında bulunur. Bu presinaptik yoğunluklar, sinaptik veziküllerin kenetlenip nörotransmitterlerin salındığı aktif zon adı verilen özel alanları temsil eder. Aktif zon; t-SNARE'ler, Rab-GTPaz kenetlenme kompleksleri ve sinaptotagmin bağlayıcı proteinler açısından zengindir. Presinaptik membrana eklenmiş olan vezikül membranı endositoz ile geri alınır ve sinir sonlanmasındaki granülsüz endoplazmik retikulum (aER) tarafından yeni sinaptik veziküller için kullanılır. Presinaptik element, çok sayıda küçük mitokondriyon da içermektedir [43, 44].

Sinaptik yarık, presinaptik nöronun postsinaptik nörondan veya hedef hücreden ayrılmasını sağlayan ve nörotransmitterin geçmesi gereken 20 ila 30 nm'lik boşluktur [43, 44].

Postsinaptik membran (postsinaptik bileşen) nörotransmitterin etkileşime girdiği reseptör bölgelerini bulundurur. Postsinaptik nöronun plazma membranının bir kısmından oluşan bu bileşen, altta yatan yoğun bir madde tabakası ile karakterize edilir. Bu postsinaptik yoğunluk, nörotransmitter-reseptör etkileşiminin hücre içi bir sinyale çevrilmesi,

nörotransmitter reseptörlerinin plazma membranına bağlanıp trafiğinin sağlanması ve reseptör aktivitesini modüle eden çeşitli proteinlerin bağlanması gibi çok sayıda işleve hizmet eden, birbirine bağlı proteinlerden oluşan ayrıntılı bir kompleksi temsil eder [43, 44].

2.5.2. Merkezi sinir sisteminin destek hücreleri

MSS'deki destek hücreleri merkezi nöroglia olarak adlandırılmaktadır ve dört tip merkezi nöroglia bulunmaktadır [43]. Bunlar; MSS nöronları için hem fiziksel hem de metabolik destek sağlayan ve morfolojik olarak heterojen hücreler olan astrositler, MSS'de miyelin oluşumundan ve devamlılığından sorumlu küçük hücreler olan oligodendrositler, fagositotik özelliklere sahip küçük, koyu renkli, uzun çekirdekli göze çarpmayan hücreler olan mikroglia ve beynin ventrikülleri ile spinal kordun merkezi kanalını kaplayan kolumnar şekilli hücreler olan ependim hücreleridir [43]. Rutin histolojik preparatlarda, glial hücrelerin yalnızca çekirdekleri görülür [43]. Glial hücrelerin şeklini bir bütün olarak inceleyebilmek için ağır metallerin kullanıldığı tekniklerden veya immünositokimyasal yöntemlerden faydalanmak gerekir [43]. Nöronlar, glial hücrelere sadece fiziksel olarak değil fonksiyonel olarak da bağımlıdırlar [43].

Astrositler

Nöroglial hücrelerin en büyüğü olan astrositler, MSS içinde bir hücre ağı oluştururlar ve nöronların birçok faaliyetini destekleyip düzenlemek için onlarla iletişim kurarlar [43, 44]. Beynin tüm kalınlığı boyunca yayılan bazı astrositler, beyin gelişimi sırasında göç eden nöronlar için bir iskelet sağlarlar [43, 45]. Diğer astrositler ise uzantılarını kan damarlarından nöronlara kadar uzatır [43, 45]. Uzantıların uç kısımları genişleyerek damar veya aksolemmanın dış yüzeyinde geniş alanları kaplayan son ayakları meydana getirir [43]. Miyelin oluşturmayan astrositlerin protoplazmik astrositler ve fibröz astrositler olarak iki çeşidi tanımlanmıştır [43-45]. Beynin gri madde kısmında daha yaygın olan protoplazmik astrositler; çok sayıda, kısa, dallanan sitoplazmik uzantılara sahiptir [43-45]. Beynin beyaz madde kısmında daha yaygın olan fibröz astrositler, daha az sayıda ve nispeten daha düz uzantılara sahiptir [43-45]. Her iki astrosit tipi de glial fibriler asidik proteinden (GFAP) oluşan belirgin ara filament demetleri içerir; ancak fibröz astrositlerde bu filamentler çok daha fazladır ve bu nedenle bu isimle anılırlar [43-45]. GFAP

antikorları, kesitlerde ve doku kültürlerinde astrositleri tanımlamak için spesifik işaretleyiciler olarak kullanılır [43]. Astrositler, nöronlara metabolitlerin ulaştırılmasında ve atıkların nöronlardan uzaklaştırılmasında önemli roller oynar [43, 44]. KBB'yi oluşturan kapillerlerin sıkı bağlantılarının korunmasına yardımcı olurlar [43, 44]. Ayrıca astrositler, Ranvier düğümleri ve sinapslar gibi miyelinli aksonların "çıplak bölgeleri" için bir örtü sağlar [43, 44]. Sinaptik yarığa nörotransmitterleri hapsedebilir ve pinositoz yoluyla fazla nörotransmitterleri uzaklaştırabilirler [43, 44]. Beyin ve spinal kord yüzeylerindeki protoplazmik astrositler, MSS'yi çevreleyen nispeten geçirimsiz bir bariyer olan glia limitans'ı oluşturmak için uzantılarını (subpial ayaklar) pia mater'in bazal laminasına kadar uzatırlar [43, 45]. Astrositlerin beynin ekstraselüler bölmesindeki K^+ konsantrasyonlarını düzenledikleri, böylece mikro çevreyi korudukları ve nöronların faaliyetlerini düzenledikleri artık genel olarak kabul edilmektedir [43, 44]. Astrosit plazma membranı, K^+ iyonlarının yüksek konsantrasyonlu alanlardan düşük konsantrasyonlu alanlara aktarılmasına aracılık eden çok sayıda K^+ pompası ve K^+ kanalı içerir [43]. Astrositlerde büyük miktarlarda intraselüler K^+ birikimi oluşması lokal ekstraselüler K^+ gradiyentini azaltır [43]. Astrosit membranı depolarize olduktan sonra yük astrosit uzantılarının yaygın ağı tarafından geniş bir alana dağıtılır [43]. Beynin ekstraselüler alanındaki K^+ konsantrasyonunun astrositler tarafından korunmasına potasyum uzaysal tamponlama denir [43].

Oligodendrositler

Oligodendrosit, MSS miyelininin üretilmesinden sorumlu hücredir [43, 45]. MSS'deki miyelin kılıf, oligodendrositin plazma membranının konsantrik katmanlarından oluşur [43]. Işık mikroskobu için özel boyalarla hazırlanmış preparatlarda oligodendrositler astrositlere kıyasla nispeten daha az sayıda uzantıya sahip küçük hücreler olarak izlenirler ve genellikle aksonlar arasında sıralar halinde dizilirler [43, 44]. Her bir oligodendrosit, aksonlara doğru uzanan birkaç tane dil benzeri uzantı çıkarır ve her bir uzantı, bir aksonun bir kısmının etrafına kendini sararak miyelinin internodal bir segmentini oluşturur [43]. Tek bir oligodendrositin çoklu uzantıları bir aksonu veya yakındaki birkaç aksonu miyelinize edebilir ve oligodendrositin çekirdek içeren bölgesi, miyelinize ettiği akson ya da aksonlardan biraz uzakta olabilir [43]. Tek bir oligodendrosit aynı anda yakındaki birkaç aksonu miyelinize edebildiğinden, hücre sitoplazmasına birden fazla aksonu gömemez ve mezakson zarının her aksonun etrafında spiral çizmesine izin veremez [43].

Bunun yerine, dil benzeri her bir uzantı miyelin kılıf oluşana kadar aksonun yakınında kalarak etrafında spiral çizip onu sarar [43]. MSS'deki miyelin kılıflarında proteolipid protein (PLP), miyelin oligodendrosit glikoproteini (MOG) ve oligodendrosit miyelin glikoproteini (OMgp) adı verilen proteinler eksprese edilir [43, 46]. Bu proteinlerin ekspresyonundaki eksiklikler, MSS'nin çeşitli otoimmün demiyelinizan hastalıklarının patogenezinde önemli rol oynar [43, 46]. Mikroskobik düzeyde, MSS'deki miyelin kılıfta daha az Schmidt-Lanterman yarığı bulunur; çünkü astrositler MSS'deki nöronlar için metabolik destek sağlar [43]. PSS'deki Schwann hücrelerinin aksine, oligodendrositlerin eksternal laminası yoktur [43]. Oligodendrositlerin MSS'deki miyelin kılıfı oluşturma şekli nedeniyle, miyelin kılıfın en dış katmanında çok az sitoplazma bulunabilir veya hiç sitoplazma bulunmayabilir ve eksternal lamina olmadığından, komşu aksonların miyelini temas edebilir [43]. Böylece, komşu aksonların miyelin kılıflarının temas ettiği yerlerde, intraperiyod çizgi paylaşılabilir [43]. Ayrıca, MSS'deki Ranvier düğümleri PSS'dekilerden daha geniştir ve açıkta kalan aksolemmanın daha geniş alanları, MSS'de saltorik (sıçrayıcı) iletimi daha verimli hale getirir [43]. MSS'deki miyelinsiz nöronlar genellikle çıplak olarak bulunur ve glial hücre uzantılarına gömülü değildirler [43]. Miyelinsiz aksonların etrafında destek hücrelerinin bulunmamasının yanı sıra MSS dokusunda bazal lamina ve bağ dokusunun bulunmaması, histolojik kesitlerde ve TEM örneklerinde MSS'nin PSS'den ayırt edilmesine yardımcı olur [43].

Mikroglialar

Fagositotik hücreler olan mikroglialar, normalde yetişkin MSS'deki tüm glial hücrelerin yaklaşık %5'ini oluştururlar; ancak yaralanma ve hastalık bölgelerinde çoğalır ve aktif olarak fagositotik hale gelirler (reaktif mikroglial hücreler) [43]. Mononükleer fagositotik sistemin bir parçası olarak kabul edilen mikroglialar, granülosit/monosit progenitör (GMP) hücrelerinden köken alır [43, 44]. Mikroglia prekürsör hücreleri MSS parankimine vasküler sistemden girer [43]. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, mikrogliaların istilacı mikroorganizmalara ve neoplastik hücrelere karşı savunmada kritik bir rol oynadığını göstermektedir [43]. Bakterileri, yaralı hücreleri ve apoptoz geçiren hücrelerin kalıntılarını temizlerler [43]. Ayrıca kronik ağrı durumlarında meydana gelenler gibi nöroimmün reaksiyonlara da aracılık ederler [43]. Nöroglial hücrelerin en küçüğü olan mikroglialar; nispeten küçük, yassı çekirdeğe sahiptirler [43, 45]. Mikroglialar, ağır metallerle muamele edildiklerinde kısa ve bükülmüş uzantılar sergiler [43, 45]. Hem hücre gövdesi hem de

uzantılar çok sayıda dikensi çıkıntılarla kaplıdır ve bu dikensi çıkıntılar diğer fagositotik hücrelerde görülen kırışık kenar eşdeğeri olabilir [43]. TEM'de çok sayıda lizozom, vezikül ve inklüzyon görülür [43]. Bununla birlikte, mikroglia çok az gER, aktin filamenti ve mikrotübül içerir [43].

Ependim hücreleri

Ependim hücreleri, beynin ventriküler boşluklarını ve spinal kordun merkezi kanalını döşeyen tek katlı kübik epitel benzeri astarı oluşturur [43-46]. Sıvı transportu yapan hücrelerin morfolojik ve fizyolojik özelliklerine sahiptirler [43]. Apikal yüzeylerindeki bağlantı kompleksleri ile sıkıca birbirlerine bağlanırlar [43]. Tipik bir epitelin aksine, ependim hücrelerinde eksternal lamina bulunmaz [43]. TEM seviyesinde, bazal hücre yüzeyi komşu astrosit uzantıları ile iç içe geçen çok sayıda katlanma sergiler [43]. Hücrenin apikal yüzeyinde BOS'un hareketini kolaylaştıran siller ve BOS'un emiliminde rol alan mikrovilluslar bulunur [43-45]. Ependim hücrelerinin özelleşmiş bir çeşidine tanisit denir [43, 44, 46]. Tanisitler en çok üçüncü ventrikül tabanında bulunurlar [43]. Tanisitlerin serbest yüzeyi BOS ile doğrudan temas halindedir; ancak ependim hücrelerinin aksine apikal yüzeylerinde siller bulunmaz [43]. Tanisitlerin hücre gövdesinden beyin parankimine doğru uzanan uzun bir uzantı çıkar [43]. Bunların rolleri belirsizdir; ancak hipotalamusun portal dolaşımında BOS'tan kana madde taşınmasında yer alırlar [43]. Tanisitler glukoz konsantrasyonuna duyarlıdır ve bu nedenle, enerji dengesindeki değişiklikleri tespit etme ve bunlara yanıt vermenin yanı sıra BOS'ta dolaşan diğer metabolitleri izlemede de rol oynuyor olabilirler [43, 44].

2.5.3. Koroid pleksus ve BOS (beyin-omurilik sıvısı, serebrospinal sıvı)

Beyin ventrikülleri sistemi içinde epitel benzeri astar, komşu kapillerlerden elde edilen materyallerin taşınması ve salgılanması yoluyla BOS'u üretmek için daha fazla modifikasyona uğramıştır [43]. Modifikasyona uğramış ependimal hücreler ve ilişkili kapillerler birlikte koroid pleksus olarak adlandırılır [43].

Koroid pleksus

Koroid pleksus, BOS üretir [44, 46]. Gelişim sırasında ependim hücre tabakası, üçüncü ve

dördüncü ventriküllerin tavanında ve lateral ventriküllerin koroid fissürü boyunca bulunan, yüksek oranda vaskülarize olmuş pia mater ile temas ederek tela choroidea'yı oluşturur [46]. Bu hücreler, meningeal kan damarlarıyla birlikte koroid pleksusu meydana getiren salgı hücrelerine farklılaşır [46]. Her bir ventrikülün koroid pleksusu, yüksek oranda polarize olmuş kübik epitel hücrelerinin tek bir katmanından oluşur [46]. Apikal alan mikrovillusların yanı sıra BOS salgılanması için gerekli enzimatik ve akuaporin proteinlerini içerir [46]. Apikal sıkı bağlantılar, sistemik dolaşımdan BOS'a serbest moleküler geçişi önlemek için kan-BOS bariyerini oluşturmak üzere komşu hücreleri birbirine bağlar [44, 46]. Bazolateral alan iç içe geçen kıvrımlar oluşturur [46]. Beyin parankiminin kapillerlerinin aksine, koroid pleksusun kapillerleri bir bazal lamina tarafından desteklenen fenestrasyonlu endotel hücreleri ile kaplıdır [46]. Endotel hücre fenestrasyonları kan plazmasındaki makromoleküllerin subepitelyal boşluğa serbestçe geçmesini sağlar; ancak bazolateral alan ve apikal sıkı bağlantılar boyunca ayrıntılı interdigitasyonlar nedeniyle doğrudan BOS'a geçemezler [46]. Koroid pleksusta çeşitli bağışıklık hücreleri bulunur [46]. Makrofajlar, lenfositler ve dendritik hücreler fenestralı kapillerlerden bağ dokusu stromasına göç eder ve transepitelyal geçişle ventriküllerdeki BOS'a ulaşabilir [46]. BOS'un ana rolü beyni toksinlerden ve atıklardan temizlemek olsa da immün hücrelerin varlığı MSS'de bir antijen izleme işlevine işaret etmektedir [46]. Düzensiz immün yanıtlar multipl skleroz gibi kronik immünopatolojik durumlara yol açabilir [46].

BOS

Lateral, üçüncü ve dördüncü ventriküllerin koroid pleksusları her 24 saatte yaklaşık 500 ml BOS üretir [44, 46]. BOS beynin lateral ventriküllerinden interventriküler foramen yoluyla üçüncü ventriküle akar [46]. BOS, serebral akuaduktus yoluyla dördüncü ventriküle inerek medyan ve lateral açıklıklar yoluyla beyin ve spinal subaraknoid boşluğa ulaşır [46]. BOS'un bir kısmı foramen magnumdan inerek yaklaşık 12 saat içinde lomber sisternaya ulaşır [46]. BOS, subaraknoid boşluğa girdikten sonra MSS'nin dışına, superior sagittal sinüsten kana akar [46]. BOS, mikroskopik araknoid villusların ve makroskopik araknoid granülasyonların BOS'u emdiği araknoid epitel boyunca sistemik dolaşıma veya bölgesel ve servikal lenf düğümlerine taşınır [46]. Koroid pleksusun epiteli kan ve BOS arasında bir bariyer oluşturur [44, 46]. Birçok madde koroid pleksusun kapillerlerini terk edebilir; ancak BOS'a giremez [46]. BOS, beyin ve spinal kordu kafatasına veya vertebral kolona

uygulanan dış kuvvetlere karşı korur ve destekler (yastık etkisi) [46]. Ayrıca BOS, ventriküler boşlukların ve subaraknoid boşluğun sürekli drenajı ile metabolik atıkların uzaklaştırılmasını sağlar [46]. BOS hacmi intrakraniyal kan hacmi ile değişir [46]. BOS'un kompartmanlar arasındaki serbest iletişimi basınç farklılıklarına karşı koruma sağlar [46]. Bir yetişkinde toplam BOS hacmi 120 ml'dir [46].

Beyin geçirgenlik bariyerleri

Beyin, beynin tabanı etrafında bir anastomoz ağı oluşturan ana arterlerden gelen kanla beslenir [46]. Bu bölgeden arterler beyin dokusuna girmeden önce subaraknoid boşluğa doğru uzanır [46].

Beyinde, perivasküler boşluk hem glia hem de endotelyal hücrelerden kaynaklanan glia limitans ile çevrilidir [46]. Sıkı bağlantılarla birbirine bağlanan fenestrasız endotel hücreleri, maddelerin kandan beyne difüzyonunu engeller [46]. Sıkı bağlantılar KBB'nin yapısal temelini temsil eder [46]. Bu bariyer, glukoza ve seçilmiş diğer moleküllere serbest geçiş sağlar; ancak çoğu maddeyi, özellikle de bir enfeksiyonun veya tümörün tedavisi için gerekli olan güçlü ilaçları hariç tutar [46]. KBB'nin yapısı bozulursa, serebral ödem olarak bilinen sinir dokusunda doku sıvısı birikimi ortaya çıkar [46]. Kapillerlerin endotel hücrelerinin dışında bir bazal lamina bulunur ve bu laminanın dışında perisitler, astrosit son ayakları ve nöronal çıkıntılar bulunur [46]. Astrositlerin son ayakları KBB'nin bir parçası olmasa da sıvı ve iyonları nöron çevresindeki ekstraselüler boşluktan kan damarlarına taşıyarak bariyerin korunmasına katkıda bulunurlar [46].

Araknoid-BOS bariyeri, venöz sinüs boyunca dağılmış araknoid villuslar veya granülasyonlar ve özellikle de sıkı bağlantılarla birbirine bağlanmış araknoid bariyer hücreleri ile temsil edilmektedir [46]. Araknoid villuslar BOS'u venöz sisteme (superior sagittal sinüs) aktarır [46].

Koroid epitelinin sıkı bağlantılarını içeren kan-BOS bariyeri, BOS'un üretiminden sorumludur [44, 46]. Sıkı bağlantılar, koroid pleksusun kapillerlerinden ayrılan ancak BOS'a giremeyen çeşitli maddelerin hücre içi taşınmasını önlemektedir [44, 46]. KBB, endotel hücreleri arasındaki boşluğu kapatan sıkı bağlantılarla temsil edilmektedir [46].

2.5.4. Kan-Beyin Bariyeri

Kan dolaşımına enjekte edilen vital boyaların, beyin hariç neredeyse tüm organlara nüfuz edip onları boyayabildiğinin yüz yıldan daha uzun bir süre önce gözlemlenmesi, KBB'nin ilk tanımını sağlamıştır [43]. Yakın zamanda, mikroskopi ve moleküler biyoloji tekniklerindeki gelişmeler, bu eşsiz bariyerin kesin konumunu ve endotel hücrelerinin temel maddelerin beyin dokusuna taşınmasındaki rolünü ortaya çıkarmıştır [43].

KBB, embriyonun erken dönemlerinde glial astrositler ve kapiller endotel hücreleri arasındaki etkileşim yoluyla gelişir [43]. Bariyer büyük ölçüde, sürekli (kesintisiz) tip kapillerlerin endotel hücreleri arasındaki girift sıkı bağlantılar tarafından oluşturulur [43, 44]. Elektron-opak işaretleyiciler kullanılarak yapılan TEM çalışmalarında endotel hücreleri arasında bulunan kompleks sıkı bağlantılar gösterilmiştir [43]. Morfolojik olarak bu bağlantılar, diğer endotel hücreleri arasında bulunan sıkı bağlantılara kıyasla epitelyal sıkı bağlantılara daha çok benzemektedir [43]. Buna ek olarak, TEM çalışmaları astrositlerin ve astrositlere ait son ayak uzantıların endotelyal bazal lamina ile yakın ilişkilerini ortaya koymaktadır [43]. Sıkı bağlantılar endotel hücreleri arasındaki boşlukları ortadan kaldırarak solütlerin ve sıvının nöral dokuya basit difüzyonunu önler [43]. Yapılan çalışmalarda, KBB'de bulunan sıkı bağlantıların bütünlüğünün, kendileriyle ilişkili astrositlerin normal işleyişine bağlı olduğu gösterilmiştir [43]. Çeşitli beyin hastalıklarında KBB etkinliğini kaybeder [43]. Bu koşullardaki beyin dokusunun TEM ile incelenmesi, sıkı bağlantıların kaybının yanı sıra astrositlerin morfolojisindeki değişiklikleri de ortaya koymaktadır [43].

Sadece birkaç küçük vezikülün bulunması, beyin endotel hücreleri boyunca pinositozun ciddi şekilde kısıtlandığını göstermektedir [43, 44]. Molekül ağırlığı 500 Da'dan fazla olan maddeler genellikle KBB'yi geçemez [43]. Nöronal bütünlük için gerekli olan birçok molekül endotel hücreleri aracılığıyla kapillerlere girer çıkarlar [43]. Böylece, O_2 ve CO_2'nin yanı sıra bazı lipidde çözünen moleküller (örneğin etanol ve steroid hormonlar) endotel hücrelerine kolayca nüfuz eder ve MSS'nin ekstraselüler sıvısıyla kan arasında serbestçe geçiş yapar [43, 44]. Nöronal membranın yüksek K^+ geçirgenliği nedeniyle, nöronlar hücre dışı K^+ konsantrasyonundaki değişikliklere karşı özellikle hassastır [43]. Astrositler, beyin ekstraselüler sıvısındaki K^+ konsantrasyonunu tamponlamaktan sorumludur ve K^+'un MSS'nin ekstraselüler sıvısına hareketini etkili bir şekilde sınırlayan

KBB’nin endotel hücreleri, astrositlere yardım eder [43, 44].

Maddeler, spesifik reseptör aracılı endositoz ile kapiller duvarından aktif olarak taşınır [43, 44]. Örneğin; glukoz (nöron, enerji için neredeyse tamamen glukoza bağımlıdır), amino asitler, vitaminler ve nükleozitler spesifik transmembran taşıyıcı proteinler tarafından aktif olarak taşınır [43]. Bu makromoleküllere karşı KBB’nin geçirgenliği, endotel hücre yüzeyinde bulunan spesifik taşıyıcı proteinlerin ekspresyon seviyesine bağlıdır [43]. Endotel hücrelerinin plazma membranındaki diğer bazı proteinler, beyni korumak için ilaç ve yabancı proteinler gibi bazı molekülleri metabolize ederek bariyeri geçmelerini önlerler [43]. Örneğin, dopamin ve noradrenalinin prekürsörü olan l-dopa (levodopa) KBB’yi kolayca geçer; ancak, l-dopanın endotel hücrelerindeki dekarboksilasyonundan oluşan dopamin bariyeri geçemez ve MSS'ye giremez [43]. Bu durumda, KBB beyindeki l-dopa konsantrasyonunu düzenler [43]. Klinik olarak bu kısıtlama, dopamin eksikliğinin (örn. Parkinson hastalığı) tedavisi için neden dopamin yerine l-dopa uygulandığını açıklamaktadır [43]. Yapılan son çalışmalar; astrositlerin son ayaklarının, beyin dokusunda su homeostazının korunmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir [43]. Su kanalları (akuaporin AQP4), suyun KBB’yi geçtiği son ayak uzantılarında bulunur [43]. Bu kanallar, serebral ödem gibi patolojik durumlarda, beynin ozmotik dengesinin yeniden kurulmasında kilit rol oynar [43].

MSS'nin bazı bölümleri kan dolaşımında taşınan maddelerden izole değildir [43]. Beynin üçüncü ve dördüncü ventrikülleri boyunca yer alan ve topluca sirkumventriküler organlar olarak adlandırılan bölgelerde bariyer etkisizdir veya yoktur [43]. Sirkumventriküler organlar arasında epifiz bezi, subfornikal organ, median eminens, subkommissural organ, area postrema, lamina terminalis organum vasculosum ve hipofiz bezinin posterior lobu yer alır [43]. Bariyer eksikliği olan bu bölgeler büyük olasılıkla kanda dolaşan ve normalde KBB tarafından geçirilmeyen maddelerin örneklenmesinde ve daha sonra bu maddeler hakkındaki bilgilerin MSS'ye iletilmesinde rol oynar [43]. Bazı araştırmacılar tarafından merkezi nörohumoral sistem içinde yer alan "beynin pencereleri" olarak tanımlanan sirkumventriküler organlar, sinir sisteminin nörosekretuar aktivitesinin kontrol edilmesinde ve vücut sıvısı homeostazının düzenlenmesinde önemlidir [43].

2.5.5. Kan damarları

Beyin diğer organlara benzer şekilde, oksijen ve besin desteği için gerekli olan vasküler ve perivasküler hücre popülasyonuna sahiptir [47]. Ekstrakraniyal benzerleriyle karşılaştırıldığında, subaraknoid boşlukta uzanan büyük arterler daha ince kas duvarlarına, daha az adventisyaya sahiptir ve eksternal elastik laminadan yoksundur [47]. Daha büyük arterler beyin parankimine girdiklerinde, hem pia-araknoid tarafından oluşturulan ince bir örtüyü hem de işlevi ve içeriği tartışmalı olsa da subaraknoid boşluğun bir devamı olan Virchow-Robin boşluğu olarak adlandırılan perivasküler bir boşluğu barındırırlar [47]. Damarlar küçük kapillerler haline geldiğinde ve endotel nöropil ile yakından ilişkili olduğunda böyle bir boşluk kalmaz [47]. Kılcal damarlar, sadece dolaşımdaki kan hücrelerinin geçişi için uygun genişliğe sahip hassas tübüler yapılar oluşturan bireysel endotel hücreleri tarafından oluşturulur [47]. Fizyolojik açıdan kritik olan KBB, ağırlıklı olarak MSS endotel hücre bağlantılarının özelleşmiş doğası tarafından oluşturulur ve histolojik olarak ayırt edilemez [47]. Özellikle bu endotel hücrelerin aralarında fenestrasyonlar yoktur ve endotel hücreleri, vasküler ve MSS alanları arasında maddelerin serbest dolaşımını işlevsel olarak engelleyen özelleşmiş sıkı bağlantılarla birleştirilmiştir [47]. Astrositik son ayaklar ve bazal lamina elemanları, KBB'nin bütünlüğüne katkıda bulunur [47].

2.5.6. Meninksler

Üç bağ dokusu membranı olan meninksler beyin ve spinal kordu sarar [43-45]. Dura mater, en dış katmandır [43-45]. Araknoid, duranın altında yer alır [43-45]. Pia mater ise doğrudan beyin ve spinal kordun yüzeyine oturan ince bir tabakadır [43-45].

Araknoid ve pia mater, tek bir kaynaktan geliştikleri için genellikle pia-araknoid olarak adlandırılırlar ve yetişkinlerde pia mater visseral kısmı, araknoid ise parietal kısmı temsil eder [43]. Yetişkin meninkslerinde pia-araknoid ortak kökeninin kanıtı, pia mater ve araknoid arasında bulunan çok sayıdaki bağ dokusu kordonlarının (araknoid trabeküller) varlığıdır [43].

Kafatası boşluğunda, kalın bağ dokusu tabakası tarafından oluşturulan dura mater, dış yüzeyinde kafatasının periostu ile devam eder [43]. Dura mater içinde endotel ile kaplı (sırasıyla periost ve dura mater tarafından desteklenen) ve beyinden dönen kan için ana

kanallar olarak hizmet veren boşluklar vardır [43]. Bu venöz (dural) sinüsler kanı ana serebral venlerden alır ve internal juguler venlere taşır [43]. Dura materin iç yüzeyinin yaprak benzeri uzantıları beynin bölümleri arasında bölmeler oluşturur ve bu bölmeler kraniyal boşluktaki bölümleri destekler ve araknoidi beynin daha derindeki bazı bölümlerine taşırlar [43]. Spinal kanaldaki vertebraların kendilerine ait periostları vardır ve dura mater spinal kordun etrafını çevreleyen ayrı bir tüp meydana getirir [43].

Dura materin iç yüzeyine dayanan araknoid, ince araknoid trabekülleri beyin ve spinal kordun yüzeyindeki pia mater'e kadar uzatır [43]. Araknoidin ağ benzeri trabekülleri bu dokuya adını verir [43]. Uzun fibroblastların bulunduğu gevşek bağ dokusu liflerinden oluşan trabeküllerin, içinde köprüler oluşturduğu boşluk subaraknoid boşluk olarak isimlendirilmektedir ve BOS içermektedir [43].

İnce bir bağ dokusu tabakası olan pia mater, doğrudan beyin ve spinal kordun yüzeyinde yer alır [43]. Pia mater, beyin ve spinal kordda bulunan kan damarlarının perivasküler bağ dokusu kılıfıyla devam etmektedir [43]. Araknoidin iki yüzeyi, trabeküller ve pia materin iç yüzeyi ince bir skuamöz epitel tabakası ile kaplıdır [43]. Hem araknoid hem de pia mater, dura materden çıkarken kraniyal ve spinal sinirlerin açıklığı etrafında kaynaşır [43].

2.5.7. Merkezi sinir sisteminde dejenerasyon ve rejenerasyon

Nöronal hasar, aksonal dejenerasyon ve nöral rejenerasyon olarak adlandırılan kompleks bir dizi olaya neden olur [43]. Nöronlar, oligodendrositler, Schwann hücreleri, mikroglialar ve makrofajlar bu yanıtlarda rol oynar [43]. Hasarlı aksonların hızlı bir şekilde rejenere olduğu PSS'nin aksine, MSS'de hasarlı aksonlar genellikle rejenere olamaz [43]. Bu fark büyük olasılıkla oligodendrositlerin ve mikroglia hücrelerinin miyelin kalıntılarını hızlı bir şekilde fagosite edememesi ve çok sayıda göç eden makrofajın KBB tarafından engellenmesiyle ilgilidir [43]. Miyelin yıkıntısı akson rejenerasyonunun çeşitli inhibitörlerini içerdiğinden, rejenerasyonun ilerlemesi için uzaklaştırılması esastır [43].

<u>Dejenerasyon</u>

Hasar bölgesinin distalindeki bir aksonun dejenerasyonuna anterograd (Wallerian) dejenerasyon denir [43]. Akson hasar gördükten 8 ila 24 saat sonra ortaya çıkan ilk

hasarlanma belirtisi aksonal şişme ve ardından aksonun parçalanmasıdır [43]. Bu durum, aksonal hücre iskeletinin bozulmasına yol açar [43]. Nörofilamentler, mikrotübüller ve diğer hücre iskeleti bileşenleri parçalanarak aksonun fragmantasyona uğramasına neden olurlar [43]. Bu süreç aksonal hücre iskeletinin granüler disintegrasyonu olarak bilinir [43]. MSS'de oligodendrositlerin hayatta kalması aksonlardan gelen sinyallere bağlıdır [43]. Schwann hücrelerinin aksine, oligodendrositler aksonlarla temaslarını kaybederse apoptotik programlanmış hücre ölümünü başlatırlar [43].

Akson hasarlanmasına MSS tarafından verilen yanıttaki önemli fark, KBB'nin hasarlanan aksonun tüm uzunluğu boyunca değil, yalnızca hasarlanma bölgesinde bozulmasıyla ilgilidir [43]. Bu durum monosit türevi makrofajların MSS'ye infiltrasyonunu sınırlar ve aylar hatta yıllar sürebilen miyelin uzaklaştırma sürecini önemli ölçüde yavaşlatır [43]. MSS'nin hasarlı bölgelerinde mikroglia hücrelerinin sayısı artsa da bu reaktif mikroglia hücreleri göç eden makrofajların fagositotik yeteneklerine tam olarak sahip değildir [43]. Miyelin yıkıntılarının etkin bir şekilde temizlenememesi, MSS'de sinir rejenerasyonunun başarısız olmasında önemli bir faktördür [43]. Sinir rejenerasyonunu etkileyen bir diğer faktör de dejenere olmuş aksonların bıraktığı boş alanı dolduran glial (astrosit türevi) skar oluşumudur [43].

Proksimal aksonda bir miktar retrograd dejenerasyon meydana gelir ve buna travmatik dejenerasyon denir [43]. Bu sürecin histolojik olarak anterograd (Wallerian) dejenerasyona benzer olduğu görülmektedir [43]. Travmatik dejenerasyonun kapsamı hasarlanmanın ciddiyetine bağlıdır ve genellikle yalnızca bir veya birkaç internodal segmenti kapsar [43]. Travmatik dejenerasyon bazen bir veya birkaç Ranvier düğümünden, daha proksimale doğru uzanır ve bu durum hücre gövdesinin ölümü ile sonuçlanabilir [43]. Bir motor lifi kesilirse o lifin innerve ettiği kas atrofiye uğrar [43]. Aksonal hasar aynı zamanda sinir hücresi gövdesine retrograd sinyal iletimini başlatır ve bu da c-jun adı verilen bir genin yukarı regülasyonuna yol açar [43]. Transkripsiyon faktörü olan C-jun, sinir rejenerasyonunun erken ve geç aşamalarında rol oynar [43]. Perinükleer sitoplazmanın ve organellerin yeniden düzenlenmesi birkaç gün içinde başlar [43]. Hasarlanan sinirin hücre gövdesi şişer ve çekirdeği perifere doğru kayar [43]. Başlangıçta nöronun merkezinden kaybolan Nissl cisimcikleri, kromatoliz adı verilen bir süreçte nöronun periferine doğru kayarlar [43]. Kromatoliz ilk kez hasarlanmadan sonraki 1 ila 2 gün içinde gözlenir ve yaklaşık 2 haftada zirveye ulaşır [43]. Hücre gövdesinde meydana gelen değişiklikler,

hasarlanma nedeniyle yok edilen aksoplazma miktarıyla doğru orantılıdır ve aksoplazmanın aşırı kaybı hücrenin ölümüne yol açabilir [43].

Rejenerasyon

MSS'de bağ dokusu membranları bulunmadığından MSS'de yenilenme olasılığı PSS'ye göre çok daha azdır [44]. MSS içindeki hasar görmüş hücreler mikroglia tarafından fagosite edilir ve fagositozla serbest bırakılan alan, glial hücrelerin çoğalmasıyla işgal edilir ve glial skar adı verilen bir hücre kütlesi oluşur [43, 44]. Glia hücre kitlelerinin onarım sürecini engellediğine inanılmaktadır. Bu nedenle, genel olarak MSS içindeki nöronal hasarın onarılamaz olduğu görülmektedir [44].

Her ne kadar nöronlar kolayca bölünmese de yetişkin memeli ve insan beyninde, uygun uyarı sağlandığında, kayıp veya hasarlı nöronların yerini almak üzere etkinleştirilebilecek nöral kök hücrelerin bulunduğuna dair kanıtlar vardır [44]. Bu hücrelerin bir kısmı glial hücre üretme, bir kısmı da nöronlara farklılaşma kapasitesine sahiptir [44]. Bu nöral kök hücrelerin, yerleştirildikleri doku hücrelerine farklılaşma konusunda multipotansiyel yetenek sergiledikleri gösterilmiştir [44].

2.5.8. Serebral korteks ve beyaz madde (beyaz cevher, substantia alba) histolojisi

Serebral korteks

Serebral hemisferlerin periferindeki gri madde, serebral korteks adı verilen birçok girus ve sulkus içine katlanmıştır [44]. Beynin bu kısmı öğrenme, hafıza, bilgi analizi, motor tepkinin başlatılması ve duyusal sinyallerin entegrasyonundan sorumludur [44]. İnsanlardaki serebral korteksin büyük çoğunluğu (>%90), daha primitif olan paleokorteks (çoğunlukla limbik ve koku korteksleri) ve arkikorteksten (hipokampal yapılar) ayırt edilen, evrimsel olarak geç bir kortikal gelişim şekli olan neokorteksten oluşmaktadır [47]. Neokorteks, anatomik konumu ve mimarisi bakımından primitif korteksten farklıdır [47]. İzokorteks olarak da adlandırılan tüm neokortikal alanlar, unsurlarının altı tabaka halinde ortaya çıktığı gelişim dönemlerinden geçer [47]. Birçok bölge bu tabakalı görünümü yaşam boyunca korur [47]. Paleo ve arkikorteks bu gelişimsel modeli veya altı tabakalı yapılanmayı yetişkinlikte paylaşmaz [47].

Serebral korteks, granüler (stellat) hücre ve piramidal hücre olmak üzere iki baskın nöron tipi içerir [47]. Piramidal hücreler serebral kortikal nöronların üçte ikisini oluşturur ve primer çıkış noktasıdır [47]. Primidal hücreler, kortikal yüzeye doğru uzanan belirgin apikal dendritlere sahiptirler ve bu nöronların aksonları uzak mesafeler boyunca uzanarak ipsilateral veya kontralateral korteks içinde sonlanırlar ya da subkortikal bölgelere giderler [47]. Granüler hücreler daha küçüktür ve neokorteksin primer internöronları olarak kabul edilirler [47]. Daha az yaygın olan diğer nöronlar; gelişim sırasında yüzeysel kortekste yaygın olan horizontal hücreler (Cajal), en derin kortikal katmanlarda en sık görülen fusiform hücreler ve tüm kortikal katmanlarda daha az sayıda bulunan Martinotti hücreleridir [47].

Serebral korteks, belirli bir tabakaya özgü morfoloji sergileyen nöronlardan oluşan altı tabakaya ayrılmıştır [44]. En yüzeysel tabaka pia materin hemen altında yer alır. Korteksin altıncı veya en derin tabakası serebrumun beyaz maddesi ile sınırlanır [44]. Altı tabaka ve bileşenleri aşağıdaki gibidir [44]:

1. Moleküler tabaka, çoğunlukla beynin diğer bölgelerinden kaynaklanan sinir sonlanmalarından, yatay hücrelerden ve nörogliadan oluşur [44].
2. Dış granüler tabaka, çoğunlukla granül (stellat) hücreleri ve nöroglial hücreleri içerir [44].
3. Dış piramidal tabaka, nöroglial hücreler ve bu tabakanın dış sınırından iç sınırına doğru giderek daha büyük hale gelen büyük piramidal hücreler içerir [44].
4. İç granüler tabaka, birbirine yakın konumlanmış olan küçük granül (stellat) hücreler, piramidal hücreler ve nöroglia ile karakterize edilen ince bir tabakadır. Bu tabaka serebral korteksin en yüksek hücre yoğunluğuna sahiptir [44].
5. İç piramidal tabaka, en büyük piramidal hücreleri ve nörogliaları içerir. Bu tabaka serebral korteksin en düşük hücre yoğunluğuna sahiptir [44].
6. Multiform tabaka, çeşitli şekillerdeki hücrelerden (Martinotti hücreleri) ve nörogliadan oluşur [44].

Bu tabakalar histolojik olarak bazı bölgelerde diğerlerine göre daha belirgindir [47]. Primer motor korteks gibi primer beyin fonksiyonuna sahip bölgelerde çoğunlukla piramidal hücreler bulunurken, öncelikli olarak entegre edici veya duyusal fonksiyona sahip bölgelerde çoğunlukla granüler hücreler bulunur [47]. Her iki durumda da tek bir hücre tipinin baskınlığı, mimari kontrast kaybı nedeniyle daha az belirgin tabakalaşmaya

neden olur [47]. Granüler ve piramidal hücrelerin neredeyse eşit oranda bulunduğu bölgeler en belirgin yatay tabakalaşmayı gösterir [47].

Serebral korteksin miyelin boyamasıyla hazırlanmış preparatlarında, H&E boyamasıyla hazırlanılanlarda kolayca görülmeyen paralel, yatay miyelinli lif bantları görülmektedir [47]. En belirgin iki bant IV. ve V. tabakalarındadır ve sırasıyla Baillarger'in dış ve iç bantları olarak adlandırılır [47]. Oksipital lobda kalkarin fissürün her iki tarafında bulunan primer vizüel korteks, lateral genikülat çekirdekten gelen vizüel afferent liflerin oluşturduğu büyük girdi nedeniyle IV. tabakada hayli genişlemiş bir Baillarger bandı ile karakterize edilir [47]. Bu genişlemiş bölge IV. tabakayı üç ayrı katmana ayırır ve kabaca "Gennari çizgisi" olarak görülebilir [47].

Beyaz madde

MSS'nin beyaz maddesi nispeten tek tiptir. Genellikle üstteki korteksten daha yoğun eozinofilik boyanır [47]. Mimarisi, gri madde yapılarına uzanan ve onlardan gelen aksonal uzantı dizileri tarafından belirlenir [47]. İnce oldukları ve arka plandaki nöropil ile karıştıkları için normal beynin H&E kesitlerinde tek tek aksonların fark edilmesi zordur (ancak nöropilin bozulduğu hastalık durumlarında fark edilebilirler) [47]. Bununla birlikte, nörofilament immünohistokimyası veya gümüşleme tekniği gibi metodlar aksonları belirginleştirebilir [47]. Oligodendrositler, fibriler astrositler ve mikrogliaların hepsi oldukça rijit bir periyotta aksonların uzunluğu boyunca yönlendirilir [47]. Beyaz madde traktusları doğrultusunda bakıldığında, yaklaşık 5 ila 10 oligodendrositten oluşan birimler aksonal uzantılar boyunca doğrusal, paralel diziler halinde yerleşir ve tek tek serpiştirilmiş fibriler astrositler tarafından kesintiye uğratılır [47]. Mikroglia da oligodendrositlerden çok daha az sıklıkta olsa da düzenli aralıklarla bulunur ve hücre gövdeleri aksonlara paralel olarak yönlendirilmiştir [47].

2.5.9. Orta beyin (midbrain) histolojisi

Orta beyinden transvers bir kesit alındığında, ventralden dorsale doğru serebral krus (crus cerebri), tegmentum ve tektum (tectum) bölümleri incelenir [41]. Orta beynin ventralindeki serebral pedinküller (pedunculus cerebri); serebral krus (crus cerebri) ve tegmentum'tan meydana gelir [41]. Yoğun beyaz madde demetleri olan serebral pedinküller, orta beynin

her iki tarafında da görülür ve ağırlıklı olarak aşağıya doğru çıkıntı yapan kortikospinal ve kortikopontin liflerden oluşur [47]. Serebral krus (crus cerebri)'un arka tarafında bazal ganglionların bir nöron topluluğu olan substantia nigra yer almaktadır [41]. Substantia nigra, orta hattan lateral ve dorsal olarak uzanan ve büyük, yoğun pigmentli nöronlar içeren ince bir şerittir [47]. Substantia nigra, kendisini oluşturan nöronların melanin pigmenti içermesi nedeniyle çevresindeki yapılardan daha koyu renkte görünür [41]. Substantia nigra, pars retikülata (pars reticulata) ve pars kompakta (pars compacta) olmak üzere iki bölüme ayrılır [41]. Ventral yerleşimli olan, daha açık renkli görünen ve pars retikülata (pars reticulata) adı verilen bölümde çok miktarda GABA-erjik nöron ile az miktarda melanin pigmenti içeren dopaminerjik nöron bulunurken; dorsal yerleşimli olan, daha koyu renkli görünen ve pars kompakta (pars compacta) adı verilen bölümde melanin pigmenti içeren dopaminerjik ve kolinerjik nöronlar bulunur [41]. Substantia nigra ve tectum arasında tegmentum yer almaktadır ve tegmentum ağırlıklı olarak beyaz madde yapıları içerir. [41]. Sağ ve sol substantia nigra arasındaki orta hatta, pigmentli dopaminerjik nöronların işlevsel olarak ayrı bir popülasyonunun bulunduğu ventral tegmental alan bulunur [47]. Kırmızı çekirdek (nucleus ruber), orta beynin rostralinde ve substantia nigranın dorsalinde çift halinde bulunan, yuvarlak gri madde yapılarıdır [42, 47]. Bu çekirdeğin taze örneklerde görülen kırmızımsı tonu, damarlanmasından ve nöronlarının çoğunun sitoplazmasında demir içeren bir pigmentin varlığından kaynaklanmaktadır [42]. Kırmızı çekirdek (nucleus ruber); serebellum, motor korteks ve omuriliği birbirine bağlar [42]. Retiküler formasyon (formatio reticularis), tegmentumda kırmızı çekirdeğin (nucleus ruber) lateralinde ve posteriorunda yer alır [42]. Üçüncü ventrikül (ventriculus tertius) ile dördüncü ventrikül (ventriculus quartus)'ü birleştiren, ependim hücreleriyle döşenmiş serebral akuaduktus (aqueductus cerebri) ve bunun etrafında yer alan periakuaduktal gri madde (substantia grisea centralis) tegmentum'da bulunur [41, 47]. Periakuaduktal gri madde (substantia grisea centralis)'de ağrı modülasyonunda rol oynayan nöronlar yer alır [47]. Serebral akuaduktus (aqueductus cerebri)'un arkasında kalan, üst kollikulus (colliculus superior) ve alt kollikulus (colliculus inferior)'ların oluşturduğu kısım ise tektum (tectum)'dur [41].

2.5.10. Beyincik (serebellum) histolojisi

Beyinciğin periferinde bulunan gri madde tabakasına serebellar korteks denir [44]. Serebellar korteks, son derece karmaşık bir yapıya sahip olmasına rağmen, histolojik

görünümü baştan sona homojen ve nispeten basittir [47]. Histolojik olarak, serebellar korteks üç tabakaya ayrılır [44, 47]:

1. Bol miktarda aksonal ve dendritik uzantılar içeren zengin bir nöropil ağı olan moleküler tabaka, üç tabakanın en dışındaki tabakadır ve pia materin hemen altında bulunur [44, 47]. Moleküler tabaka, yüzeysel olarak yerleşmiş stellat hücreleri, Purkinje hücrelerinin dendritlerini, sepet hücrelerini ve granüler tabakadan gelen miyelinsiz aksonları içermektedir [44].
2. Purkinje hücre tabakası, moleküler tabaka ile daha derinde yer alan granüler hücre tabakasının birleştiği yerde bulunur [47]. Purkinje hücre tabakası, sadece beyincikte bulunan büyük, flask şekilli Purkinje hücrelerini içerir [44]. Bu hücrelerin ağaçsı dendritleri moleküler tabakaya, miyelinli aksonları ise beyaz maddeye uzanır [44]. Her Purkinje hücresi, uygun yanıtı oluşturmak için entegrasyonunu yapması gereken yüz binlerce uyarıcı ve inhibitör sinaps alır [44]. Purkinje hücresi, serebellar korteksin dışarıya bilgi gönderen tek hücresidir ve bu her zaman nörotransmitter olarak GABA'yı kullanan inhibitör bir çıktıdır [44]. Purkinje hücre aksonlarının çoğunluğu dentat çekirdeğin nöronları üzerinde sonlanır [47].
3. Üç tabakanın en derininde yer alan granüler tabaka, küçük granül hücreleri ve glomerüllerden (serebellar adalar) oluşur [44]. Glomerüller, serebelluma giren aksonlar ile granül hücreleri arasında sinapsların gerçekleştiği serebellar korteks bölgeleridir [44]. Beyinciğin granüler hücreleri MSS'de en sık görülen nöronal hücrelerdir ve Purkinje hücrelerinin merkezinde yüksek yoğunluklu bir bölgede bulunurlar [47]. Her bir granüler hücre moleküler tabakaya bir akson gönderir ve bu akson daha sonra çok sayıda Purkinje hücresi dendritik ağacı ile sinaps yapan paralel lifleri oluşturmak üzere çatallanır [47].

Derinde bulunan serebellar çekirdekler, beyinciğin orta hattının her iki yanında, serebellar kortekse giren ve çıkan medullar merkezin beyaz madde yollarının ortasında yer alır [47]. Bunlar büyük ve küçük nöronlar içeren ince, dalgalı gri madde bantları olarak görülür [47]. Gri madde bandı içinde, beyincikten dışarı doğru uzanan beyaz madde yollarının merkezi bir bölgesi bulunur [47]. En büyük ve en lateral çekirdek, medullanın inferior olive bölgesi ile hem gelişimsel bağları hem de morfolojik benzerliği olan dentat çekirdektir [47]. Dentat çekirdek, süperior pedinkül yoluyla serebellum dışına çıkan çoğu efferent sinyalin kaynağıdır [47]. Lateralden mediale doğru derinde bulunan diğer serebellar çekirdekler; emboliform, globoz ve fastigial çekirdeklerdir [47].

2.6. Nöron Fizyolojisi Ve Merkezi Sinir Sistemi Fonksiyonunun Ana Seviyeleri

2.6.1. Aksonal transport sistemleri

Nöronların çoğu ayrıntılı aksonal ve dendritik uzantılara sahiptir [43]. Sentez aktivitesi nöronun hücre gövdesinde yoğunlaştığından, yeni sentezlenen maddeler çift yönlü bir mekanizma olan aksonal transport ile uzantılara aktarılır [43, 44]. Aksonal transport, moleküllerin ve bilgilerin mikrotübüller ve ara filamentler boyunca hücre gövdesinden akson terminaline ve akson terminalinden hücre gövdesine taşınmasını sağlayan intraselüler iletişim modu olarak hizmet eder [43]. Aksonal transport; anterograd veya retrograd ve hızlı, intermediyer veya yavaş olabilir [43, 44]. En hızlı taşıma (400 mm/gün'e kadar), organellerin anterograd transportunda gerçekleşir [44]. Retrograd transportta en yüksek hız anterograd transportta gözlemlenenin yarısından azdır, en yavaş olanı ise sadece yaklaşık 0,2 mm/gün'dür [44]. Bu iki uç nokta arasındaki aksonal transport hızları intermediyer olarak kabul edilir [44].

Anterograd transport, maddeleri hücre gövdesinden perifere taşır [43, 44]. ATP kullanan ve mikrotübülle ilişkili bir motor proteini olan kinezin, anterograd transportta rol oynar [43, 44]. Retrograd transport, maddeleri periferden hücre gövdesine taşır [43, 44]. Başka bir mikrotübülle ilişkili motor proteini olan dinein, retrograd transportta rol oynar [43, 44].

Yavaş transport sisteminin maddeleri hücre gövdesinden terminal butona taşıma hızı 0,2-4 mm/gün'dür [43]. Yavaş transport sistemi, sadece anterograd transport sistemdir ve bu sistemle mikrotübül prekürsörleri olan tübülin molekülleri, nörofilamentleri oluşturan proteinler ve aktin molekülleri gibi yapısal unsurlar veya sitoplazmik matriks proteinleri ile çeşitli metabolik enzimler taşınır [43]. Hızlı transport sisteminin maddeleri hücre gövdesinden akson terminaline ve akson terminalinden hücre gövdesine taşıma hızı 20-400 mm/gün'dür [43]. Hızlı transport sistemi hem anterograd hem de retrograd transport sistemdir [43]. Hızlı anterograd transport sistemi ile hücre gövdesinden akson terminaline aER bileşenleri, mitokondri ve sinaptik veziküller gibi membranlı organelleri; amino asitler, şekerler, nükleotidler, kalsiyum ve bazı nörotransmitterler gibi düşük moleküler ağırlıklı maddeleri taşır [43]. Bu maddelerin yanı sıra endositoz ile alınan proteinler ve diğer moleküller hızlı retrograd transport sistemi ile akson terminalinden hücre gövdesine taşınır [43]. Her iki yönde de hızlı transport, mikrotübülle ilişkili motor proteinleri

tarafından kullanılan ATP'ye gereksinim duyar ve hücre gövdesinden aksonun sonlanmasına kadar uzanan mikrotübül düzenlemesine bağlıdır [43].

Dendritik transportun aksonal transport ile aynı özelliklere sahip olduğu görülmektedir [43].

2.6.2. Membran potansiyelleri

Nöronal hücre membranının birçok integral membran proteini, iyonların sitoplazma içine ve dışına taşınmasını sağlayan veya difüze edilmesine izin veren pompalar ve kanallar olarak işlev görür [45]. Aksonun aksolemması ya da sınırlayıcı membranı Na^+'yı aksoplazmadan dışarı pompalayarak intraselüler Na^+ konsantrasyonunu ekstraselüler Na^+ konsantrasyonunun sadece onda biri düzeyinde muhafaza eder [44, 45]. Buna karşılık, intraselüler K^+ konsantrasyonu ekstraselüler K^+ konsantrasyonundan kat kat daha yüksek bir düzeyde muhafaza edilir [44, 45]. Bu durum aksolemma boyunca yaklaşık -65 mV'luk bir potansiyel fark yaratır ve iç kısım dışa göre negatiftir [45]. Buna istirahat membran potansiyeli denir [45]. Bir nöron uyarıldığında, iyon kanalları açılarak istirahat potansiyelini -65 mV'den +30 mV'ye değiştiren ve hücre içini, yalıtkan glial hücreler tarafından oluşturulan ekstraselüler çevreye göre pozitif hale getiren ani bir ekstraselüler Na^+ girişi olur [45]. Hücre içindeki Na^+ iyonlarının fazlalığı istirahat membran potansiyelinin tersine dönmesine yol açar ve membran depolarize olur [44]. Bu değişim aksiyon potansiyelinin veya sinir impulsunun başlangıcıdır [45]. +30 mV'lik potansiyel, voltaj kapılı Na^+ kanallarını hızla kapatıp aksolemmanın yeniden Na^+ iyonuna karşı geçirgenliğini yitirmesine sebep olur [48]. Sonuç olarak, voltaj kapılı Na^+ kanalları 1-2 milisaniye boyunca inaktive olur ve bu durum refrakter dönem olarak bilinir [44]. Voltaj kapılı Na^+ kanalları inaktif olduğu süre boyunca açılamaz veya kapanamazlar ve Na^+ iyonları onları geçemez [44]. Refrakter dönemin varlığı, voltaj kapılı Na^+ kanallarının özel yapısından kaynaklanmaktadır [44]. Bu kanalların aktivasyon kapısı ve inaktivasyon kapısı olmak üzere iki kapısı vardır [44]. Aktivasyon kapısı, membranın depolarizasyonu sonucunda açılan ve membran depolarize olduğu sürece açık kalan ekstrasitoplazmik bir kapıdır [44]. Bununla birlikte inaktivasyon kapısı, aktivasyon kapısının açılmasından sonra saniyenin birkaç on binde biri içinde kapanan intrasitoplazmik kapıdır [44]. Bu nedenle, aktivasyon kapısı açık kalsa da Na^+ iyonları artık bu kanallardan hücreye giremez veya hücreden çıkamaz [44]. Refrakter dönem sırasında voltaj kapılı K^+ kanallarının açılıp K^+

iyonlarının ektraselüler sıvıya çıkmasına izin vermesi istirahat membran potansiyelini geri kazandırır; ancak kısa bir hiperpolarizasyon dönemi meydana gelebilir [44]. İstirahat potansiyeli tekrar sağlandığında, voltaj kapılı K^+ kanalları kapanır ve voltaj kapılı Na^+ kanalının aktivasyon kapısının kapanması ve inaktivasyon kapısının açılmasıyla birlikte refrakter dönem sona erer [44]. Bu lokal olayların süresi çok kısadır (yaklaşık 5 milisaniye) ve sınırlı bir membran bölgesinde gerçekleşir [45, 48]. Bununla birlikte, aksiyon potansiyeli aksonal membran boyunca ilerleyerek sinir impulsunu üretir [45]. Elektriksel düzensizlik komşu Na^+ kanallarını ve ardından da K^+ kanallarını açar [48]. Bu şekilde aksiyon potansiyeli akson boyunca yüksek bir hızda yayılır ve saniyede birkaç tane meydana gelir [45]. Bir aksiyon potansiyeli sinir ucuna ulaştığında, başka bir nöronu ya da kas veya bez hücresi gibi nöron olmayan bir hücreyi uyaran veya inhibe eden depolanmış nörotransmitterin deşarjını teşvik eder [45].

2.6.3. Sinir impulsunun iletilmesi

Sinir impulsları, akson tepeciğinin voltaj kapılı Na^+ kanalları bakımından son derece zengin olan bir bölgesinde kolay bir şekilde üretilen elektrik sinyalleridir [43, 44]. Akson tepeciğinin bu bölgesi bir nöronun spike tetikleme zonu olarak bilinir ve membran depolarizasyonu sonucunda impulslar akson boyunca akson terminaline iletilir [44]. İmpulsların bir nöronun terminallerinden başka bir nörona, bir kas hücresine veya bir salgı bezine iletilmesi sinapslarda gerçekleşir [44].

Nöronlar ve diğer hücreler, plazma membranı boyunca yaklaşık -70 mV'lik bir istirahat potansiyeli ile elektriksel olarak polarize edilmiştir; ancak daha küçük kas hücrelerinde ve küçük sinir liflerinde bu fark -40 ila -60 mV kadar düşük olabilir [44]. Bu potansiyel, hücrenin içindeki ve dışındaki iyon konsantrasyonları arasındaki fark nedeniyle ortaya çıkar [44]. Memeli hücrelerinin içindeki K^+ iyonlarının konsantrasyonu dışına göre çok daha yüksekken, Na^+ iyonlarının ve Cl^- iyonlarının konsantrasyonu çok daha düşüktür [44].

Plazma memranındaki K^+ iyonu sızıntı kanalları, K^+ iyonlarının konsantrasyon gradiyenti boyunca hücre dışına nispeten serbest bir şekilde akmasına izin verir [44]. K^+ iyonu sızıntı kanalı Na^+ iyonlarının hücreye girmesine izin verse bile potasyumun sodyuma oranı 100:1'dir [44]. Bu durumda, hücreye giren Na^+ iyonlarından çok daha fazla K^+ iyonu

hücreyi terk eder ve plazma membranının dışında küçük bir net pozitif yük birikir [44]. İstirahat potansiyelinin korunması öncelikle K^+ iyonu sızıntı kanallarına bağlı olsa da plazma zarındaki Na^+-K^+ iyon pompaları aktif olarak Na^+ iyonlarını hücre dışına ve K^+ iyonlarını hücre içine pompalayarak istirahat potansiyelinin korunmasına yardımcı olur [44].

Membran depolarizasyonu, hiperpolarizasyon ve istirahat membran potansiyeline dönüş döngüsü aksiyon potansiyeli olarak adlandırılır ve 1000 kez/sn hızında meydana gelebilen bir ya hep ya hiç reaksiyonudur [43, 44]. Akson üzerinde bir noktada voltaj kapılı Na^+ kanallarının açılmasıyla meydana gelen membran depolarizasyonu kısa bir mesafe boyunca pasif olarak yayılır ve komşu kanalların açılmasını tetikleyerek başka bir aksiyon potansiyelinin oluşmasına neden olur [43, 44]. Bu şekilde, depolarizasyon dalgası veya impuls akson boyunca iletilir [43, 44]. *İn vivo* ortamda bir impuls, ortodromik yayılma olarak bilinen ilk depolarizasyon bölgesinden akson terminaline doğru yalnızca tek bir yönde iletilir [44]. Refrakter dönemler sırasında Na^+ iyon kanallarının inaktivasyonu, depolarizasyon dalgasının antidromik yayılma olarak bilinen retrograd yayılımını önler [44].

İmpuls, miyelinli aksonlar tarafından miyelinsiz aksonlara göre daha hızlı iletilir [43, 44]. Sinir impulsunun miyelinli akson boyunca ilerlemesi, fizyologlar tarafından düğümden düğüme "sıçrama" olarak tanımlanmaktadır [43]. Bu sürece saltatorik (süreksiz iletim, kesintili iletim) denir [43]. Miyelinli sinirlerde, sinirin etrafında bulunan miyelin kılıf elektrik akımını iletmez ve aksonun çevresinde yalıtkan bir tabaka oluşturur [43]. Bununla birlikte, voltaj değişikliği sadece aksolemmanın miyelin kılıfından yoksun olduğu Ranvier düğümlerinde meydana gelebilir [43]. Burada eksraselüler sıvılara maruz kalan aksolemma, yüksek konsantrasyonda voltaj kapılı Na^+ ve K^+ kanallarına sahiptir [43]. Bu nedenle, akım bir Ranvier düğümünden diğerine geçerken voltajın tersine dönmesi (ve dolayısıyla impuls) sıçrar [43, 44]. Sıçrayıcı iletimin hızı hem miyelinin kalınlığı ile hem de aksonun çapı ile ilişkilidir [43]. İletim, daha büyük çaplı aksonlar boyunca daha hızlıdır. Na^+ ve K^+ kanalları, miyelinsiz aksonlarda lifin uzunluğu boyunca eşit olarak dağılır [43]. Sinir impulsu daha yavaş iletilir ve akson boyunca sürekli bir voltaj tersine dönme dalgası olarak hareket eder [43].

2.6.4. Sinaptik İletişim

Bir sinir impulsu sinaptik butona ulaştığı zaman membran boyunca impuls tarafından oluşturulan voltaj değişimi (depolarizasyon olarak adlandırılır), butonun presinaptik plazma membranında bulunan voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarının açılmasını sağlar [43]. Ekstraselüler alandan Ca^{+2} girişinin olması, sinaptik veziküllerin presinaptik membrana göç etmesine, bağlanmasına ve kaynaşmasına neden olur, böylece nörotransmitter ekzositoz yoluyla sinaptik yarığa salınır [43]. Vezikül kenetlenmesi ve füzyonu esas olarak sinaptotagmin ve SNARE proteinlerinin aktiviteleri tarafından yönlendirilir [43]. Vezikül füzyonunu takiben nörotransmitterin kitlesel salınımına alternatif olarak aktif zonlara bağlanan veziküllerin, vezikül lümenini sinaptik yarığa bağlayan geçici bir por yoluyla nörotransmitterleri saldığı porositoz süreci bulunmaktadır [43]. Bu süreçte, veziküllerden salgı, vezikül membranının presinaptik membran ile füzyonu olmadan gerçekleşir [43]. Bunun yerine sinaptik vezikül, SNARE ve sinaptotagmin proteinleri tarafından Ca^{+2} seçici kanallarının yanında presinaptik membrana bağlanır [43]. Ca^{+2} varlığında, vezikül ve presinaptik membranlar, vezikülün lümenini sinaptik yarığa bağlayan 1 nm'lik geçici bir por oluşturmak üzere yeniden düzenlenir [43]. Nörotransmitterler bu geçici membran porları aracılığıyla kontrollü bir şekilde salınabilir [43]. Nörotransmitter daha sonra sinaptik yarık boyunca difüze olur [43]. Aynı zamanda, nörotransmitteri serbest bırakan sinaptik butonun presinaptik membranı hızlı bir şekilde endositotik veziküller oluşturur ve bunlar geri dönüşüm veya nörotransmitter ile yeniden yüklenmek için butonun endozomal bölmesine giderler [43].

Salınan nörotransmitter molekülleri, transmitter kapılı kanallar adı verilen postsinaptik membran reseptörlerinin ekstraselüler kısmına bağlanır [43]. Nörotransmitterin bağlanmasıyla birlikte bu kanal proteinlerinde porların açılmasına neden olan konformasyonel bir değişiklik meydana gelir [43]. Sonuçta hücreye giren iyonun kimliği ortaya çıkan yanıtı belirler [43]. Örneğin, Na^{+} girişi postsinaptik membranda lokal depolarizasyona neden olur, bu da uygun koşullar altında (yeterli miktarda nörotransmitterin yeterli sürede salınımı) voltaj kapılı Na^{+} kanallarının açılmasına ve böylece bir sinir impulsu oluşmasına yol açar [43].

G-protein-eşlenik reseptörlere bağlanan bazı amino asit ve amin nörotransmitterleri daha uzun süreli ve daha çeşitli postsinaptik yanıtlar üretebilir [43]. Nörotransmitter postsinaptik

membran üzerindeki bir transmembran reseptör proteinine bağlanır [43]. Reseptör bağlanması, postsinaptik membranın intraselüler yüzeyi boyunca hareket eden ve sonunda efektör proteinleri aktifleştiren G-proteinlerini aktive eder [43]. Bu efektör proteinler, transmembran G-protein-kapılı iyon kanallarını veya ikincil-mesajcı molekülleri sentezleyen enzimleri içerebilir [43]. Asetilkolin gibi bazı nörotransmitterler etki ettikleri reseptör sistemine göre farklı postsinaptik etkiler oluşturabilir [43].

Presinaptik bileşen tarafından nörotransmitter salınımı yapılması, postsinaptik membranda eksitasyon ya da inhibisyona yol açar [43]. Asetilkolin, serotonin veya glutamin gibi nörotransmitterlerin eksitatör sinapslardan salınımı transmitter kapılı Na^+ kanallarını veya diğer katyon kanallarını açar ve postsinaptik membranda voltaj değişimine (depolarizasyon) neden olan bir Na^+ girişini tetikler [43]. Bu da bir aksiyon potansiyelinin başlamasına ve bir sinir impulsunun oluşmasına yol açar [43]. Glisin (Gly) veya γ-aminobütirik asit (GABA) gibi nörotransmitterlerin inhibitör sinapslardan salınımı, transmitter kapılı Cl^- kanallarını veya diğer anyon kanallarını açarak Cl^-'nin hücreye girmesine ve postsinaptik membranı hiperpolarize ederek daha da negatif hale getirmesine neden olur [43]. Bu sinapslarda bir aksiyon potansiyelinin oluşması daha da zorlaşır [43].

Postsinaptik bir nöronda sinir impulsunun nihai üretimi (ateşleme), bu nörona gelen eksitatör ve inhibitör impulsların toplamına bağlıdır [43]. Bu durum, postsinaptik nöronun (ya da kas lifi veya bez hücresinin) yanıtının hassas bir şekilde düzenlenmesini sağlar [43]. Sinapsların işlevi sadece impulsları bir nörondan diğerine değişmeden iletmek değildir [43]. Sinapslar daha ziyade nöronal girdinin işlenmesini sağlar [43]. Presinaptik nörondan postsinaptik nörona geçen impuls, doğrudan yolda olmamasına rağmen sinapsa erişimi olan diğer nöronlar tarafından değiştirilebilir [43]. Bu diğer nöronlar presinaptik nöronun veya postsinaptik nöronun membranını etkileyebilir ve impulsların iletimini kolaylaştırabilir veya engelleyebilir [43]. Postsinaptik bir nöronda impulsların ateşlenmesi, yüzlerle ifade edilebilecek sayıdaki sinapsın eylemlerinin toplamından kaynaklanır [43].

2.6.5. Nörotransmitterler ve reseptörleri

Sinir sisteminin çeşitli bölgelerinde nörotransmitter olarak görev yapan birçok molekül tanımlanmıştır [43]. Presinaptik elemandan salınan bir nörotransmitter, sinaptik yarıktan geçerek postsinaptik membrana yayılır ve burada belirli bir reseptörle etkileşime girer [43].

Nörotransmitterin etkisi kimyasal yapısına ve efektör hücrenin postsinaptik membranında bulunan reseptörün özelliklerine bağlıdır [43].

Bilinen hemen hemen tüm nörotransmitterler, integral membran proteinleri olan çoklu reseptörler üzerinde etkilidir [43]. Bu reseptörler iyonotropik ve metabotropik reseptörler olarak iki ana sınıfa ayrılır [43]. İyonotropik reseptörler, transmitter veya ligand kapılı kanallar olarak da adlandırılan integral transmembran iyon kanalları içerir [43]. Nörotransmitterin iyonotropik reseptörlere bağlanması, reseptör proteinlerinin konformasyonel bir değişimini tetikleyerek kanalın açılmasına ve ardından seçici iyonların hücre içinde veya dışında hareket etmesine yol açar [43]. Bu da efektör hücrede aksiyon potansiyeli oluşturur. Genel olarak, iyonotropik kanalları kullanan sinyalizasyon çok hızlıdır ve beynin ana nöronal yollarında ve PSS'deki somatik motor yollarında meydana gelir [43]. Metabotropik kanallar yalnızca belirli bir nörotransmitteri bağlamaktan değil, aynı zamanda hücre içi alanlarında G-proteini ile etkileşime girmekten de sorumludur [43]. G-proteini, hücre içi sinyalizasyonda rol oynayan önemli bir proteindir [43]. İkinci bir habercinin sentezinde yer alan enzimlerin faaliyetlerini değiştirerek sinyalleri dışarıdan hücrenin içine iletir [43]. Metabotropik reseptörlerin aktivasyonu çoğunlukla nöronal aktivitenin modülasyonunda rol oynar [43].

Asetilkolin (ACh), nöromüsküler kavşakta aksonlar ve çizgili kas arasındaki nörotransmitterdir ve otonom sinir sistemi (OSS)'nde bir nörotransmitter olarak görev yapar [43]. ACh, parasempatik ve presinaptik sempatik nöronlar ile bunların efektörleri tarafından salınır [43]. ACh ayrıca postsinaptik parasempatik nöronların yanı sıra ter bezlerini innerve eden belirli bir postsinaptik sempatik nöron türü tarafından da salgılanır [43]. Nörotransmitter olarak ACh kullanan nöronlara kolinerjik nöronlar denir [43]. Postsinaptik membrandaki ACh reseptörleri kolinerjik reseptörler olarak bilinir ve bu reseptörler iki sınıfa ayrılır [43]. Metabotropik reseptörler zehirli mantarlardan elde edilen bir madde olan muskarin ile (muskarinik ACh reseptörleri), iyonotropik reseptörler ise tütün bitkisinden elde edilen nikotin ile (nikotinik ACh reseptörleri) etkileşime girer [43]. Kalpteki muskarinik ACh reseptörü, K^+ kanallarına bağlı G-protein-eşlenik bir reseptör örneğidir [43]. Kalbin parasempatik olarak stimüle edilmesi ACh'yi serbest bırakır, bu da K^+ kanallarını açarak kalp kası liflerinin hiperpolarizasyonuna neden olur [43]. Bu hiperpolarizasyon kalbin ritmik kasılmasını yavaşlatır [43]. Bunun aksine, iskelet kaslarındaki nikotinik ACh reseptörü iyonotropik transmitter kapılı bir Na^+ kanalıdır [43].

Bu kanalın açılmasıyla birlikte iskelet kası lifleri hızlı bir şekilde depolarize olur ve böylece kasılma başlar [43].

Norepinefrin (NE), epinefrin (EPI, adrenalin) ve dopamin (DA) gibi katekolaminler, tirozin amino asidinden bir dizi enzimatik reaksiyonla sentezlenir [43]. Nörotransmitter olarak katekolaminleri kullanan nöronlara katekolaminerjik nöronlar denir [43]. Katekolaminler MSS'de hareket, ruh hali ve dikkatin düzenlenmesinde rol oynayan hücreler tarafından salgılanır [43]. Nörotransmitter olarak epinefrin (adrenalin) kullanan nöronlara adrenerjik nöronlar denir [43]. Hepsi NE'yi adrenaline EPI'ye dönüştüren bir enzim içerir ve OSS'de EPI postsinaptik sempatik aksonlar ile efektörleri arasında bir transmitter görevi görür [43]. EPI ayrıca savaş ya da kaç yanıtı sırasında adrenal medullanın endokrin hücreleri (kromaffin hücreler) tarafından kan dolaşımına salınır [43].

Triptofanın hidroksilasyonu ve dekarboksilasyonu ile meydana gelen serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), MSS ve enterik sinir sistemi nöronlarında bir nörotransmitter olarak işlev görür [43]. Nörotransmitter olarak serotonin kullanan nöronlara serotonerjik nöronlar denir [43]. Serotonin salınımından sonra, bir kısmı presinaptik serotonerjik nöronlarda geri alım yoluyla geri dönüştürülür [43]. Yapılan son çalışmalar serotoninin embriyolarda asimetrik sağ-sol gelişiminin oluşmasında önemli bir molekül olduğunu göstermektedir [43].

Glutamat (Glu), GABA, Gly ve aspartat (Asp) gibi amino asitler esas olarak MSS'de nörotransmitter olarak işlev görür [43].

Serbest radikal özelliklerine sahip basit bir gaz olan nitrik oksit (NO) aynı zamanda bir nörotransmitter olarak tanımlanmıştır ve düşük konsantrasyonlarda sinir impulslarını bir nörondan diğerine taşır [43]. Hücre gövdesinde sentezlenen ve sinaptik veziküllerde depolanan diğer nörotransmitterlerin aksine, NO sinaps içinde sentezlenir ve hemen kullanılır [43]. Eksitatör bir nörotransmitter olan Glu'nun, NO sentazın NO üretmek üzere aktive edildiği bir zincirleme reaksiyonu indüklediği ve NO'nun da presinaptik butondan sinaptik yarık ve postsinaptik membran yoluyla bitişik hücreye yayıldığı varsayılmaktadır [43]. NO'nun biyolojik etkileri, daha sonra hedef hücrelerde siklik guanozin monofosfat (cGMP) üreten guanilil siklazın aktivasyonundan kaynaklanmaktadır [43]. cGMP de G-protein sentezine etki eder ve sonuçta nöronal aksiyon potansiyellerinin

oluşmasına/modülasyonuna neden olur [43].

Küçük peptitler de sinaptik transmitter olarak hareket etmektedir [43]. Bunlar arasında substans P, hipotalamik serbestleştirici hormonlar, endojen opioid peptitler (örneğin; endorfin, enkefalinler, dynorfinler), kolesistokinin (CCK), vazoaktif intestinal peptidi (VIP) ve nörotensin bulunmaktadır [43]. Bunların çoğu bağırsak kanalındaki enteroendokrin hücreler tarafından sentezlenir ve salınır [43]. Komşu hücrelere hemen etki edebilirler (parakrin salgı) veya uzak hedef hücrelere etki etmek için hormon olarak kan dolaşımında taşınabilirler (endokrin salgı) [43]. Ayrıca hipotalamusun nörosekretuar nöronları ve endokrin organlar tarafından sentezlenir ve salınırlar [43].

Nörotransmitterlerin parçalanması veya yeniden alınması, postsinaptik membranın uyarılma veya inhibisyon süresini sınırlamak için gereklidir [43]. Sinaptik yarığa salındıktan sonra nörotransmitterin en yaygın şekilde uzaklaştırıldığı sürece yüksek afiniteli geri alım denir [43]. Bu mekanizmada, salınan nörotransmitterlerin yaklaşık %80'i presinaptik membranda bulunan spesifik nörotransmitter taşıma proteinlerine bağlanarak uzaklaştırılır [43]. Nörotransmitterler, presinaptik butonun sitoplazmasına taşındıktan sonra ya enzimatik olarak parçalanırlar ya da boş sinaptik veziküllere yeniden yüklenirler [43]. Örneğin, katekolaminlerin postsinaptik reseptörler üzerindeki etkisi, Na^+ bağımlı taşıyıcılar kullanılarak presinaptik butona geri alınmasıyla sonlandırılır [43]. Presinaptik butonun içine girdikten sonra, katekolaminler gelecekte kullanılmak üzere sinaptik veziküllere yeniden yüklenir [43]. Katekolaminlerin fazlası katekol O-metiltransferaz (COMT) enzimi tarafından inaktive edilir veya dış mitokondriyal membranda bulunan başka bir enzim olan monoamin oksidaz (MAO) tarafından yok edilir [43].

Nörotransmitterlerin geri kalan %20'sini postsinaptik membranla ilişkili enzimler parçalar. Örneğin, kas hücresi tarafından sinaptik yarığa salgılanan asetilkolinesteraz (AChE), ACh'yi hızlıca asetik asit ve koline dönüştürür [43]. Kolin daha sonra kolinerjik presinaptik buton tarafından alınır ve ACh sentezi için yeniden kullanılır [43]. Nöromüsküler kavşaktaki AChE etkisi çeşitli farmakolojik bileşikler, sinir ajanları ve pestisitler tarafından inhibe edilebilir ve bu da kas kasılmasının uzamasına neden olur [43].

2.6.6. Merkezi Sinir Sistemi Fonksiyonunun Ana Seviyeleri

İnsan sinir sistemi, insanın evrimsel gelişiminin her aşamasından özel fonksiyonnel yetenekler miras almıştır [49]. Bu mirastan, merkezi sinir sisteminin üç ana seviyesi belirli fonksiyonel özelliklere sahiptir: spinal kord seviyesi, alt beyin (subkortikal) seviyesi ve üst beyin (kortikal) seviyesi [49].

Spinal kord seviyesi: Genellikle spinal kordu sadece periferden beyne ya da beyinden perifere giden sinyaller için bir kanal olarak düşünürüz [49]. Bu varsayım gerçeklerden çok uzaktır [49]. Spina kord yüksek boyun bölgesinden kesildikten sonra bile, birçok yüksek düzeyde organize olmuş spinal kord fonksiyonu gerçekleşmektedir [49]. Örneğin, spinal korddaki nöronal devreler; yürüme hareketlerine, vücudun bazı kısımlarını ağrılı nesnelerden uzaklaştıran reflekslere, vücudu yerçekimine karşı desteklemek için bacakları sertleştiren reflekslere ve yerel kan damarlarını, gastrointestinal hareketleri veya idrar atılımını kontrol eden reflekslere neden olabilir [49]. Genellikle sinir sisteminin üst seviyeleri doğrudan perifere sinyaller göndererek değil, kordun kontrol merkezlerine sinyaller gönderip basitçe kord merkezlerine fonksiyonlarını yerine getirmeleri için komut vererek çalışır [49].

Alt beyin (subkortikal) seviyesi: Vücudun bilinçaltı faaliyetleri olarak adlandırdığımız şeylerin çoğu olmasa da birçoğu beynin alt bölgelerinde, yani medulla, pons, mezensefalon, hipotalamus, talamus, beyincik ve bazal ganglionlarda kontrol edilir [49]. Örneğin, arteriyel basınç ve solunumun bilinçaltı kontrolü esas olarak medulla ve pons'ta sağlanır [49]. Denge kontrolü, beyinciğin eski kısımları ile medulla, pons ve mezensefalonun retiküler maddesinin ortak bir işlevidir [49]. Yiyeceklerin tadına tepki olarak tükürük salgılama ve dudakları yalama gibi beslenme refleksleri medulla, pons, mezensefalon, amigdala ve hipotalamus bölgeleri tarafından kontrol edilir [49]. Buna ek olarak, öfke, heyecan, cinsel istek, acıya karşı verilen tepki ve zevke karşı verilen reaksiyon gibi birçok duygusal örüntü, serebral korteksin büyük bir kısmının tahrip edilmesinden sonra da ortaya çıkabilir [49].

Üst beyin (kortikal) seviyesi: Kord ve alt beyin seviyelerinde meydana gelen birçok sinir sistemi fonksiyonunundan sonra, "serebral korteksin yapması için geriye ne kaldı?" diye sorulabilir [49]. Bu sorunun cevabı karmaşıktır; ancak serebral korteksin son derece büyük

bir hafıza deposu olduğu gerçeğiyle başlar [49]. Korteks hiçbir zaman tek başına çalışmaz, daima sinir sisteminin alt merkezleriyle birlikte çalışır [49]. Serebral korteks olmadan, alt beyin merkezlerinin işlevleri genellikle tam olarak yerine getirilemez [49]. Geniş kortikal bilgi deposu bu fonksiyonları belirleyici ve kesin işlemlere dönüştürür [49]. Son olarak, serebral korteks düşünce süreçlerimizin çoğu için gereklidir; ancak kendi başına işlev göremez [49]. Serebral kortekste uyanıklığı başlatan ve böylece anı bankasını beynin düşünme mekanizmasına açan korteks değil, alt beyin merkezleridir dolayısıyla, sinir sisteminin her bir bölümü belirli fonksiyonları yerine getirir; ancak zihin tarafından kullanılmak üzere depolanmış bilgi dünyasını açan kortekstir [49].

2.7. Parkinson Hastalığı

Parkinson hastalığı tıbbi açıdan ilk kez 1817'de James Parkinson tarafından nörolojik bir sendrom olarak tanımlanmıştır; ancak parkinsonizmin izleri daha önceki açıklamalarda bulunabilir [50]. Örnek olarak, Sylvius de la Boë istirahat tremorundan bahsetmiş ve Sauvages festinasyonu tanımlamıştır [50]. Çok daha eski, yaklaşık M.Ö. 1000 yıllara ait geleneksel Hint metinleri ve eski Çin kaynakları da Parkinson hastalığını düşündüren açıklamalar sunmaktadır [50-52].

Parkinsonizmin klinik sendromu; genellikle maskeli yüz olarak adlandırılan azalmış yüz ifadesi, kambur duruş, hareketin yavaşlaması (bradikinezi), festinasyon yürüyüşü (giderek kısalan, hızlanan adımlar), rijidite ve "hap yuvarlama" tremorunu birleştirir [53]. Substantia nigradan striatuma kadar uzanan dopaminerjik nöronların hasarlandığı bir dizi hastalıkta bu tip motor bozukluklar görülebilir [53]. Parkinsonizm, dopaminerjik nöronları seçici olarak hasarlayan dopamin antagonistleri gibi toksinler ya da ilaçlarla tetiklenebilir [53]. Nörodejeneratif hastalıklar arasında yer alan parkinsonizm olgularının büyük bir kısmı α-sinüklein içeren nöronal inklüzyonlarla karakterize olan Parkinson hastalığıdır [53]. Parkinsonizm görülebilen diğer hastalıklar progresif supranükleer palsi (PSP), multiple sistem atrofisi (MSA), kortikobazal dejenerasyon (CBD) ve 1918 influenza pandemisiyle ilişkili olan postensefalitik parkinsonizmdir [53].

Parkinson hastalığı, substantia nigradaki dopaminerjik nöronların kaybından kaynaklanan hipokinetik bir hareket bozukluğu ile kendini gösteren nörodejeneratif bir hastalıktır [53]. Parkinson hastalığının klinik tanısı, toksik veya altta yatan başka bir bilinen etiyolojinin

yokluğunda parkinsonizm üçlüsünün (tremor, rijidite ve bradikinezi) varlığına dayanır [53]. Bu klinik izlenim, dopaminin ilk prekürsörü olan L-3,4-dihidroksifenilalanin (L-DOPA) replasman tedavisine semptomatik yanıt ile doğrulanır [53]. Parkinson hastalığının tanısı büyük ölçüde striatumun azalmış dopaminerjik innervasyonunu yansıtan motor semptomların varlığına dayansa da hastalık dopaminerjik nöronlarla veya bazal gangliyonlarla sınırlı değildir [53]. Motor semptomlarla sonuçlanan substantia nigra dejenerasyonu, beyin sapının alt kısmında başlar ve sonunda serebral korteksi tutarak bilişsel bozukluğa yol açan ilerleyici bir hastalığın orta aşamasını temsil eder [53].

Substantia nigranın dopaminerjik nöronları striatuma projekte olur ve Parkinson hastalığındaki dejenerasyonları striatal dopamin içeriğindeki azalmayla ilişkilidir [53]. Motor sendromun şiddeti, kısmen de olsa L-DOPA replasman tedavisi ile düzeltilebilen dopamin eksikliğiyle orantılıdır [53]. Bununla birlikte, tedavi yapısal değişiklikleri tersine çevirmez veya hastalığın ilerlemesini durdurmaz ve ilerlemeyle birlikte ilaç tedavisi daha az etkili hale gelerek semptomları yönetmek daha da zorlaşır [53]. Son yıllarda, derin beyin stimülasyonu Parkinson hastalığının motor semptomları için bir tedavi yöntemi olarak ortaya çıkmıştır [53]. Ayrıca; Parkinson hastalığında iyi karakterize edilmiş nöral ve biyokimyasal eksiklikler, nöral transplantasyon ve gen terapisinin terapötik denemeleri için bir gerekçe sağlamıştır [53].

2.7.1. Parkinson hastalığının epidemiyolojisi

Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığından sonra ikinci en yaygın nörodejeneratif hastalıktır [54]. Parkinson hastalığının sanayileşmiş ülkelerdeki prevalansı nüfusun yaklaşık %0,3'üdür ve bu oran 60 yaşın üzerindekilerde %1'e, 80 yaşın üzerindekilerde %3'e yükselip yaşlanmanın etkisini göstermektedir [55, 56]. Parkinson hastalığının ortalama başlangıç yaşı yaklaşık 60'tır; ancak vakaların %10'u 20 ila 50 yaş arasında ortaya çıkan genç başlangıçlı olarak sınıflandırılır ve bu da ayrı bir hastalık grubunu temsil etmektedir [56]. Parkinson hastalığı erkeklerde kadınlardan daha yaygındır ve 1,1:1 ile yaklaşık olarak 3:1 arasında değişen oranlardan bahsedilmektedir [57]. Bu durum kadınlarda östrojenin koruyucu etkilerine bağlanabilir [58]. Birleşik Krallık'ta, Parkinson hastalığının sosyoekonomik maliyetinin yaklaşık 3,3 milyar £ olduğu tahmin edilmektedir ve Amerika Birleşik Devletleri'nde hasta başına yıllık maliyet 10,000 $ civarında olup toplam ekonomik yük 23 milyar $'dır [59]. Maliyetin en büyük bölümünü hastalığın

ilerleyen aşamalarında yatılı bakım ve huzurevleri oluştururken, ilaç masrafları çok daha azdır [59].

2.7.2. Parkinson hastalığının etiyolojisi

Farklı bir hasta popülasyonunu oluşturduğu düşünülen genç başlangıçlı vakalar dışında Parkinson hastalığı geliştiren bireylerin çoğunluğu için yaş en büyük predispozan faktör olarak değerlendirilmektedir; ancak hastalığa yol açanın kronolojik yaş mı yoksa yaşlanma süreci mi olduğu bilinmemektedir [4, 60]. Kadınlarda yaşın ilerlemesiyle birlikte östrojen üretiminin azalması östrojenin koruyucu etkisini ortadan kaldırabilir böylece erken menopoz, histerektomi veya ovaryumların alınması kadınlarda hastalık riskini arttırdığı yönünde bazı kanıtlar bulunmaktadır [58, 61]. Yapılan gen araştırmaları devam ettikçe genetik nedenlerin yaygınlığı da belirginleşmektedir ve otozomal dominant, resesif ve duyarlılık genleri nedeniyle risk altında bulunan kişilerin popülasyonun %40'ı kadarını oluşturabileceği bildirilmiştir [62]. Bununla birlikte, Parkinson hastalığının gelişimine katkıda bulunan çevresel faktörler de bulunmaktadır [63]. 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP)'nin nigral dopaminerjik hücreler için toksik etkiye sahip olduğu anlaşıldıktan sonra Parkinson hastalığının çevresel nedenlerine karşı ilgi artmıştır; ancak MPTP benzeri başka toksinler keşfedilmemiştir [64]. Ticari bir yabani ot öldürücü olan ve MPTP ile yapısal olarak ilişkili parakuat, kemirgenlerde dopaminerjik hücreleri yok etmektedir ve parakuatın herhangi bir spesifik bileşikle bağlantısı olmamasına rağmen, epidemiyolojik çalışmalarda Parkinson hastalığının gelişim riskini arttırdığına dair kanıtlar elde edilmiştir [65-67]. Aynı durum, bahçıvanlar tarafından yaygın bir şekilde pestisit olarak kullanılan derrisin bir bileşeni olan kompleks I inhibitörü rotenon için de geçerli olabilir; ancak özel hiçbir vaka bildirilmemiştir [68]. Buna karşılık, Guadeloupe'da meyvelerden elde edilen annonasine maruz kalmanın parkinsonizme yol açtığı gösterilmiştir [69]. Diğer çevresel nedenler arasında solvent maruziyeti (n-hekzan, metanol), karbon monoksit zehirlenmesi, hidrojen sülfür zehirlenmesi ve muhtemelen manganez yer almaktadır; ancak manganez buharına maruz kalabilen kaynak işçilerinde artmış Parkinson hastalık riskinin görülmediği bildirilmiştir [70]. Dikkat edilmesi gereken bir faktör de kafa travmasıdır, zira popülasyon çalışmalarında bu durumun artmış Parkinson hastalık riski için sınırda anlamlılığa sahip olduğu defalarca gösterilmiştir [4].

Parkinson hastalığının gelişimine karşı koruma sağlayan faktörler, altta yatan patojenik mekanizmalar hakkında çok şey açığa çıkarabilir [4]. Özellikle sigara içmenin koruyucu etkisi en iyi belgelenmiş ve en çok tekrarlanabilir gözlemdir [71]. Nikotin, nöroprotektif etki için en yakın adaydır ve hem semptomatik tedavi hem de nöroproteksiyon için α-7 nikotinik agonistler gibi nikotinik agonistlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar yürütülmektedir [72]. Bununla birlikte, sigara dumanı 4000'den fazla bileşen içermektedir dolayısıyla diğer ajanlar koruyucu etkilere katkıda bulunabilir, örneğin sigara içmenin beyindeki MAO-B aktivitesini azalttığı bildirilmiştir [73]. Kafein alımı da Parkinson hastalığının gelişimine karşı koruyucu görünmektedir ve yapılan çalışmalarda kafein alımının hormon replasman tedavisi kullanmayanlarda ve kadınlara göre erkeklerde daha fazla koruyucu etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir [74]. Çeşitli deneysel Parkinson hastalık modellerinde kafeinin, büyük olasılıkla adenozin A2a reseptörünün katılımı aracılığıyla nöroprotektif etkiler sergilediği gösterilmiştir [75]. Bu durum, Parkinson hastalığı için semptomatik tedaviler olarak geliştirilen istradefilin ve preladenant gibi A2a antagonistlerinin potansiyel nöroprotektif etkisini ortaya koymaktadır [4]. Diğer potansiyel koruyucu faktörler çok iyi tanımlanmamıştır; ancak antihipertansiflerin (özellikle kalsiyum antagonistleri), nonsteroid antiinflamatuar ilaçların ve antilipidemiklerin etkisi olduğuna dair görüşler bulunmaktadır, yine de bunların hepsi bu bileşiklerle ilgili olumsuz raporlarla dengelenmiştir [63, 76-78]. Bununla birlikte, Parkinson hastalığının gelişiminde egzersiz ve metabolik faktörlerin potansiyel öneme sahip oldukları bildirilmiştir [78].

Ailesel Parkinson hastalığının araştırıldığı çalışmalarda hastalığın varyantlarından sorumlu olan en az 17 otozomal dominant ve otozomal resesif gen mutasyonu bulunmuştur [79]. Bunlar arasında α-sinüklein mutasyonları ve triplikasyonu, PARKIN, ubikuitin karboksilterminal hidrolaz L1 (UCH-L1), DJ-1, PINK1, lösin bakımından zengin tekrar kinaz 2 (LRRK2) ve glukoserebrosidaz (GBA) bulunmaktadır [4]. Parkinson hastalığının ailesel formları ve ilişkili gen mutasyonları vakaların yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır ve bunlar birbirinden farklı klinik ve patolojik fenotiplere sahiptir [4]. Bununla birlikte Parkinson hastalığındaki hastalık sürecinin altında yatan moleküler mekanizmalara yönelik önemli ipuçlarını ortaya koyan bu tür gen mutasyonlarına ilişkin araştırmalarda sporadik Parkinson hastalığı ile yeterli örtüşme bulunmuştur [4]. Ailesel Parkinson hastalığındaki nörodejenerasyon mekanizmalarının birçoğu mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres ve değişmiş protein kullanımı gibi sporadik Parkinson hastalığında keşfedilen patojenik mekanizmalarla örtüşmektedir [4, 79]. Ayrıca genetik analiz tekniklerindeki ilerlemeler,

uygun maliyetli genotipleme olanağı ve Uluslararası Parkinson Hastalığı Genomik Konsorsiyumu gibi büyük hasta numune konsorsiyumlarının oluşturulması; idiyopatik Parkinson hastalığında α-sinüklein, LRRK2, insan lökosit antijeni (HLA) ve tau dahil olmak üzere Parkinson hastalığı için yaklaşık 14 risk geni lokusunu ortaya çıkaran genom çapında ilişkilendirme çalışmalarını kolaylaştırmıştır [80, 81]. Bu tür risk gen lokuslarının varlığı Parkinson hastalığının gelişimi için belirleyici olmasa da Parkinson hastalığının hem genetik risk hem de çevresel faktörleri içeren karmaşık bir hastalık olduğu gerçeğini göstermektedir [4].

PARKIN, insan genomunun en büyük ikinci genidir [82]. Bu genden 465 aminoasitlik PARKIN proteini eksprese edilir. PARKIN bir ubikuitin ligazdır ve yıkım için hedeflenen proteinlere ubikuitinin bağlanmasını katalizlemektedir. PARKIN mutasyonlarının normal protein yıkımını engellediği bilinmektedir. İdiyopatik Parkinson hastalığının otozomal resesif geçişli kalıtımla tanımlanan ilk, idiyopatik Parkinson hastalığı ile ilişkilendirilerek tanımlanan ikinci gendir. Farklı etnik gruplarda tüm ekzonlardaki değişikliklerini içeren çok sayıda PARKIN mutasyonları tanımlanmıştır. Başlangıç yaşı 21 olan juvenil Parkinson hastalığının en sık nedeni PARKIN'deki homozigot mutasyonlardır [83]. Şimdiye kadar 147 farklı değişikliği içeren 887 ekzonik PARKIN mutasyonu tanımlanmış ve 887 mutasyonun 119'u küçük delesyonlar, 293'ü tek nükleotid polimorfizmi (single nucleotide polymorphism, SNP) ve 475'i bir veya daha fazla ekzonda meydana gelen dublikasyon ve delesyonlar olarak belirlenmiştir. PARKIN geninde en sık ortaya çıkan mutasyon tipi 3. ekzonun delesyonu ve diğer en sık görülen mutasyon 7. ekzondaki SNP'dir [82, 84]. PARKIN mutasyonu ile ilişkili Parkinson hastalığındaki en önemli belirteç olguların büyük bir kısmında Lewy cisimciğinin olmamasıdır. Yapılan çalışmalarda PARKIN geninde oluşan mutasyonun ve PARKIN protenindeki fonksiyon kaybının, nöronları sitotoksik etkilere karşı savunmasız hale getirdiği bildirilmiştir [85]. Birkaç çalışmada, PARKIN varyantlarının sporadik Parkinson hastalığı riskini artırdığı ve/veya başlangıç yaşını etkilediği ileri sürülmüştür. Bununla birlikte bazı çalışmalarda, heterozigot mutasyonların ve yapısal genetik varyantların hastalarda ve sağlıklı kontrollerde aynı sıklıkta gözlendiği gösterilmiştir. Bu çelişkili sonuçlar, heterozigot PARKIN mutasyonlarının hastalık gelişimindeki rolünü belirsiz kılmaktadır [86].

PINK1, 8 ekzondan oluşmaktadır. PINK1 proteini serin/treonin kinaz aktivitesine sahiptir ayrıca mitokondriyel hedefleme motifi içerir [82]. PINK1 mutasyonları tensin ve fosfataz

tarafından indüklenir. Bu mutasyonlar erken dönem Parkinson hastalığının oluşumuna sebep olan ve 2. sıklıkta görülen mutasyonlardır. PINK1 mutasyonlarının sıklığı farklı etnik gruplara göre %1 ila %9 oranında değişiklik göstermektedir [87]. PARKIN mutasyonlarından farklı olarak PINK-1 mutasyonları nonsense ve missense mutasyonlardır. Bu mutasyonlar; p.Pro196Leu, p.Gln129fsX157, pTrp437X, p.Gly309Asp, p.Gln456X, p.Gly440Glu olarak tespit edilmiştir ve PINK1 mutasyonlarında yapısal delesyonlar nadir görülmektedir [88]. Sadece 4-8., 6-8. ve 7. ekzonlarda tüm ekzon delesyonu görülmektedir [89]. Yapılan bir çalışmaya 170'ten fazla Parkinson hastası dahil edilmiştir ve bu çalışmada 60'tan fazla PINK1'e ait tüm ekzonları içeren nonsense ve missense mutasyon tespit edilmiştir. 7. Ekzonda oluşan p.Gln456X en sık görülen mutasyondur. PINK1 mutasyonları kinaz domainlerini etkiler ve bu durum PINK1 mutasyonlarının Parkinson hastalığı patogenezindeki enzimatik aktivitesinin önemini ortaya koymaktadır [82]. Yapılan bazı çalışmalarda, heterozigot PINK1 mutasyonlarının PARKIN'e benzer şekilde idiyopatik Parkinson hastalığı için risk faktörleri olarak hareket edebilecekleri bildirilmiştir [86].

PINK1, PARKIN'le birlikte mitokondri morfolojisinin kontrol edilmesinde görev almaktadır ve PINK1 mutasyonu mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna neden olarak Parkinson hastalığına yol açar [90]. Bazı çalışmalarda, PARKIN'in ubikuitin proteasomal sistemdeki işlevinin yanı sıra mitokondriyal depolarizasyona yol açan bozulmuş elektrokimyasal membran potansiyeli sonucunda sitozolden işlevsiz mitokondriye spesifik olarak yer değiştirdiği gösterilmiştir [91-93]. Mitokondrinin otofaji aracılı degradasyonu olan mitofajiye, ubikuitin bağımlı bir mekanizmada Parkinson hastalığı ile ilişkili proteinler olan PARKIN ve PINK1 kısmen aracılık eder [92, 94]. Mitofaji sürecinde; PINK1 mitokondriyal hasar sensörü, PARKIN sinyal yükselticisi ve ubikuitin zincirleri ise sinyal efektörü olarak işlev görür [95]. Sağlıklı mitokondri mevcut olduğunda PINK1, N-terminal mitokondriyal hedefleme dizisinin aracılık ettiği dış membran kompleksinin translokazından iç mitokondriyal membrana taşınır [96]. Bunu PINK1'in, iç mitokondriyal membranda bir proteaz olan ve 52 kDa'lık PINK1 protein parçasının üretilmesine yol açan presenilin ilişkili rhomboid benzeri protein (PARL) tarafından bölünmesi izler [97, 98]. Daha sonra protein fragmanı proteazomal degradasyon için ubikuitin ligaz tarafından ubikuitinlenerek hızla sitozole salınır [97]. Bu nedenle, PINK1'in hücre içi seviyeleri, sağlıklı mitokondrilerde düşüktür [99].

α-Sinüklein proteininden sorumlu olan SNCA genindeki mutasyonların, otozomal dominant Parkinson hastalığının en sık rastlanan ikinci nedeni olduğu bilinmektedir [100]. SNCA geninde oluşan gen kopya sayısındaki artış ve yanlış anlam mutasyonları Parkinson hastalığına yol açmaktadır [101]. SNCA geninde ilk tanımlanan ve en sık görülen mutasyon A53T mutasyonudur. Bu mutasyon genellikle erken başlangıçlı Parkinson hastalığına neden olmaktadır [82, 101, 102]. SNCA genindeki mutasyonlar, α-sinüklein proteininin N-terminal amfipatik bölgesinde aminoasit değişimine neden olmaktadır [103]. Hem sitoplazmada hem de presinaptik terminallerde sinaptik vezikül membranlarıyla ilişkili kısımlarda bulunan α-sinüklein; nöron sağ kalımı, yağ asiti bağlanması, sinaptik vezikül salınımı, vezikül trafiği gibi olaylarda önemli bir rol oynar [104]. Doğal bir şekilde katlanmayan α-sinüklein proteininin N-terminal amfipatik bölgesinde sarmal-dönüş-sarmal motifi bulunur [82, 101]. Yanlış anlamlı mutasyonlar amfipatik heliks yapısını bozar ve α-sinüklein proteininin toksik fonksiyon kazanmasına neden olur. Ayrıca SNCA genindeki kopya sayısı arttıkça α-sinüklein proteininin ekspresyonu, agregasyonu ve fibril oluşturması artmaktadır. SNCA, çoğunlukla Parkinson hastalığına neden olan bir gen olarak düşünülmesine rağmen, farelerde α-sinüklein proteininin genetik ablasyonunun aslında anormal mitokondriyal lipid bileşimine ve işlevine yol açtığı belirtilmektedir [105]. α-sinüklein nakavt farelerden alınan dopaminerjik nöronların, vahşi tipteki kontrollere göre oksidatif strese daha duyarlı oldukları bildirilmiştir [106, 107]. Bu bulgular, mitokondriyal stres yanıtında α-sinüklein proteininin fizyolojik ve koruyucu bir rolü olduğunu düşündürmektedir [108]. Bununla birlikte; kronik mitokondriyal stres ya da PARKIN veya PINK1'deki mutasyonların neden olduğu α-sinükleinin uzun süreli veya kontrolsüz aktivasyonu, aşırı mitokondriyal fizyona, mitokondriyal yetmezliğe ve nihayetinde nöron ölümü ve Parkinson hastalığına yol açabilir [108]. α-sinüklein proteininin aşırı ekspresyonunun nörodejenerasyon ile birlikte mitokondriyal parçalanmaya ve işlev bozukluğuna neden olduğu bildirilmiştir [109, 110].

Tirozin hidroksilaz (TH) katekolamin sentezinin hız sınırlayıcı enzimidir [111]. Tirozinin L-DOPA'ya hidroksilasyonunu katalize eder [112]. Dopamin, epinefrin ve norepinefrinden oluşan katekolaminler, hem merkezi hem de periferik sinir sistemlerinde hormon ve nörotransmitter olarak önemli olan yolak ürünleridir [111]. Bunlar ikincil olarak, adrenal medullada sentezlenirler [112, 113]. Katekol monoaminler dikkat, hafıza, kognisyon ve duygu gibi birçok beyin fonksiyonunda rol oynar [114-118]. Savaş ya da kaç tepkisinin hormonu olarak adrenal bezde üretilen epinefrin vücuttaki birçok dokuyu etkiler [119]. Bu

nedenle katekolamin seviyelerindeki eksiklik ve fazlalıkların muhtemelen yüksek tansiyon, bipolar bozukluk, bağımlılık ve distoniler dahil olmak üzere birçok sonuca yol açtığı düşünülmektedir [120-122]. Bu nedenle, yolaktaki en yavaş enzim olan TH'nin aktivitesi biyomedikal araştırmaların birçok alanında büyük ilgi görmektedir [111]. Katekolaminerjik bir sinapsta nörotransmitter ihtiyacı arttığında, TH daha fazla DOPA yapmak için aktive olur ve DOPA'nın dekarboksilasyonundan sonra dopamin veziküler monoamin taşıyıcı (VMAT) tarafından sinaptik veziküle aktarılır [111]. Katekolamin sentezi daha sonra dopamin-β-hidroksilaz ve feniletanolamin-N-metiltransferazın etkileriyle veziküllerde devam eder [111]. Kalsiyum akışı veziküllerin sinaptik yarığa boşalmasına neden olur ve sinir sinyali iletilir [111]. Bir miktar katekolamin presinaptik nöron tarafından alınır; ancak bir sonraki iletim için daha fazlasının sentezlenmesi gerekir [111]. İhtiyaç azalana kadar TH aktivitesi sürdürülmeli ve nörotransmitter ihtiyacı geçtiğinde TH aktivitesi durdurulmalıdır [111]. Tüm bunları gerçekleştiren post-translasyonel mekanizmalar arasında kinazlar tarafından fosforilasyon, fosfatazlar tarafından defosforilasyon, geri besleme inhibisyonu, nitritler tarafından oksidasyon ve protein komplekslerine dahil olma yer almaktadır [111]. Bu komplekslerin bazıları TH'nin aktivitesini değiştirirken bazıları da enzimi diğer ilgili proteinlerin yakınına yerleştirir [111]. Yapılan çalışmalarda α-sinüklein, TH'nin düzenlenmesine dahil edilmiştir [111]. α-sinüklein ve dopamin arasındaki ilişki, nöronal hücrelerin seçici ölümüne ve yanlış katlanmış α-sinükleinin birikimine yol açmaktadır [123]. Yanlış katlanmış α-sinüklein, Parkinson hastalığının tanısal histolojik özelliği olan Lewy cisimciğinin önemli bir bileşenidir [111]. Parkinson hastaları, TH'nin en bol bulunduğu beyin bölgesi olan substantia nigra'nın bozulması nedeniyle düşük dopamin seviyesinden muzdariptir [111]. α-sinükleinin TH'ye bağlandığı, TH fosforilasyonunu ve DOPA üretimini azalttığı gösterilmiştir [124]. Ayrıca α-sinüklein, Lewy cisimciğinde de büyük miktarlarda bulunan 14-3-3 proteinleriyle kısmi bir benzerliğe sahiptir [125].

2.7.3. Parkinson hastalığının patolojisi

Substantia nigranın pars kompakta kısmındaki nöron kaybı ve bunu takiben striatal dopamin içeriğin kaybı, Parkinson hastalığının klasik motor özelliklerinden sorumlu olarak kabul edilmektedir [4]. Parkinson hastalığının nöropatolojik tanısı, pars kompaktada belirgin dopaminerjik nöron kaybının ve ışınsal filamentlerin soluk boyanan halkasıyla çevrili yoğun bir çekirdekten oluşan eozinofilik inklüzyonlar olan Lewy cisimciklerinin

varlığının tespit edilmesini gerektirir [4]. Lewy cisimciğinin patogenezdeki rolü bilinmemektedir; ancak yanlış katlanmış α-sinükleinin ışınsal filamentlerin önemli bir bileşeni olduğu ve nöronal uzantılarda Lewy nöritleri olarak da bulunduğu keşfedilmiştir [126]. Bu durum bunların oluşumu ve nöronal kayıptaki rolü hakkında görüşleri değiştirip patolojik bir bakış açısıyla hastalık sürecinin başlangıcı ve ilerlemesiyle ilgili düşüncelerde büyük bir değişime ve Parkinson hastalığının bir sinükleinopati olarak sınıflandırılmasına yol açmıştır [126]. Bununla birlikte, Parkinson hastalığının nöropatolojik tablosunun daha yaygın olduğu ve locus coeruleus, beyin sapının retiküler formasyonu, raphe çekirdeği, vagusun dorsal motor çekirdeği, Meynert'in bazal çekirdeği, amigdala ve hipokampus dahil olmak üzere birçok nondopaminerjik çekirdeğin etkilendiği on yıllardır bilinmektedir [127]. Daha da önemlisi, bu çekirdeklerin tümü Lewy cisimciği patolojisi ile dejenere olur ve pars kompaktada meydana gelenle ortak bir patojenik süreç olduğunu düşündürür [4]. Bu nondopaminerjik bölgelerdeki Lewy cisimciği patolojisi daha sonra bazı nonmotor semptomlara neden olur [4]. Örneğin; hiposmi, amigdala ve perirhinal nükleus gibi beyin merkezlerinde ve olfaktör bulbusta Lewy cisimcikleri ve Lewy nöritlerinin varlığı ile ilişkilidir; ancak Parkinson hastalığıyla ilişkili patolojiyi başka bir seviyeye taşıyan, periferik dokulardaki Lewy cisimciklerinin varlığıdır [4, 128, 129]. Parkinson hastalığında ortostatik hipotansiyon, Lewy cisimciklerinin varlığında kalbin sempatik otonomik denervasyonu ile ilişkilidir [130, 131]. Lewy cisimcikleri miyenterik pleksusta bulunur ve bu durum da Parkinson hastalığında meydana gelen gastrointestinal hareketlilikteki değişiklikleri yansıtır [4]. Bununla birlikte, periferden kaynaklanan değişiklikler arasında bir bağlantı olabilir [4]. Örneğin; yaygın bir nonmotor semptom olan kabızlık, mide ve bağırsağa parasempatik innervasyon sağlayan vagusun dorsal motor çekirdeğindeki nöronal kayıp ve Lewy cisimciklerinin varlığı ile ilişkilidir [132-134].

Parkinson hastalığındaki patolojinin pars kompaktada başlamadığı, aksine Lewy cisimciği patolojisinin ve α-sinüklein birikiminin olfaktör bulbus ve alt beyin sapından kaynaklandığı, buradan aşamalı olarak yayılıp orta beyni tuttuğu ve sonunda kortikal bölgelere yayıldığı tahmin edilmektedir [4]. Parkinson hastalığında Lewy cisimciği ve α-sinüklein patolojisinin kaudorostral yayılımının evrelendirilmesi ilk olarak 2003 yılında Braak ve arkadaşları tarafından önerilmiştir [135]. Önerilen bu evrelendirmeye göre α-sinüklein birikiminin vagusun dorsal motor çekirdeğinde (evre 1) başladığı, buradan pons (evre 2) yoluyla orta beyne (evre 3) ve oradan da bazal prosensefalon ve mezokortekse (evre 4) doğru yukarı yönde ilerlediği ve nihayetinde neokortekse (evre 5 ve 6) ulaştığı

düşünülmektedir [4, 135]. Parkinson hastalığının motor özellikleri yalnızca pars kompaktadaki dopaminerjik nöronların yoğun kaybından sonraki 3. evrede belirgin hale gelir [4]. Her ne kadar tüm Parkinson hastalarının hastalık patolojisinin bu yayılma modelini tam olarak takip etmediği kabul edilse de günümüzde Parkinson hastalığında yayılmacı patolojinin gerçekleştiği genel olarak kabul edilmektedir [4, 136]. Bu durum, Parkinson hastalık patolojisinin bir nörondan diğerine yayılabileceği şeklindeki önemli kavramı gündeme getirmektedir [137]. Bunun tam olarak nasıl gerçekleştiği bilinmemektedir; ancak etkilenmiş bir nöron tarafından serbest bırakılan ve komşu etkilenmemiş bir nöron tarafından alınan değişikliğe uğramış α-sinüklein veya nöronlar arasındaki doğrudan transfer, α-sinükleinin yanlış katlanma döngüsünü ve α-sinüklein patolojisinin yayılmasını sürdürmek için prion benzeri bir mekanizmada bir tohum görevi görebilir [138]. Bu hipotez tartışmalı olsa da bazı çalışma grupları hücre kültüründe, hayvan modellerinde ve Parkinson hastalarının striatumuna transplante edilen fetal mezensefalik hücrelerde böyle bir tohumlama mekanizması olduğunu göstermiştir [138].

2.7.4. Parkinson hastalığının nörodejenerasyon mekanizması

Oksidatif stres

Oksidatif stres, Parkinson hastalığındaki dopaminerjik nöronların kaybının altında yatan kavramların temel taşı olmaya devam etmektedir [4]. Serbest radikal üretiminin arttığına dair doğrudan kanıt bulmak neredeyse imkansızıdır; ancak oksidatif stresin potansiyel indükleyicileri ve etkilerinin belirteçleri, bunun gerçekleşmesi için önemli bir zemin hazırlamaktadır [4]. Parkinson hastalığında pars kompaktada ve muhtemelen daha genel olarak tüm vücutta artmış lipid peroksidasyonu (malondialdehit, lipid hidroperoksitler, 4-hidroksinonenal ve ileri glikasyon son ürünleri), protein oksidasyonu (protein karbonilleri) ve DNA oksidasyonu (8-hidroksiguanozin) aynı duruma işaret etmektedir [4]. Pars kompaktada değişen demir akümülasyonu, kalsiyum kanalı aktivitesindeki değişiklikler, değişen proteoliz (proteazomal ve lizozomal), α-sinüklein agregasyonundaki değişiklikler ve mutant proteinlerin varlığı Parkinson hastalığında oksidatif stresin nasıl indüklenebileceğine dair örneklerdir [77, 139-141].

Mitokondriyal fonksiyon değişikliği

Parkinson hastalığında hücre ölümüne mitokondriyal katılım yeniden gündeme gelmiştir ve hem sporadik hem de kalıtsal Parkinson hastalığında nöronal kaybın nasıl oluştuğuna dair birleştirici kavramın bir parçasını oluşturmaktadır [4]. Mitokondrinin önemine yönelik ilginin artması ailesel Parkinson hastalığına ilişkin genetik araştırmalardan kaynaklanmaktadır [4]. Özellikle α-sinüklein, PARKIN, PINK1, DJ-1 ve LRRK2'deki mutasyonlar değişen mitokondriyal fonksiyon ile ilişkilendirilmiştir [140, 142, 143].

Proteazomal ve lizozomal proteoliz değişikliği

Lewy cisimciklerinde başta α-sinüklein olmak üzere çok sayıda proteinin bulunması, Parkinson hastalığında istenmeyen, hasarlı veya mutasyona uğramış proteinlerin katabolizmasının bozularak hücresel agregasyona ve nöronal ölüme yol açabileceği fikrini ortaya çıkarmıştır [144-146]. Bu da ubikuitin-proteazom sistemi (UPS) ve lizozomların Parkinson hastalığı patogenezindeki rollerinin araştırılmasına yol açmıştır [4]. Parkinson hastalığında 26S proteazomun incelenmesi, katalitik aktivitesinde ve muhtemelen yanlış bir şekilde α-sinükleinin bozulmuş degradasyonu ile ilişkilendirilen pars kompaktadaki bileşiminde seçici değişiklikler olduğunu ortaya koymuştur [147-149]. Sonuç olarak dikkatler lizozomlara ve otofajiye (makro otofaji, mikro otofaji ve şaperon aracılı otofaji) çevrilmiştir [140]. Otofajiyle ilişkili proteinlerin ve otofagozomların Lewy cisimciklerinde bulunmasının da etkisiyle, bu durum dopaminerjik hücre ölümüyle ilişkili aksaklıklar için uygun bir hedef gibi görünmektedir [4].

İnflamasyon değişikliği

Parkinson hastalığında beyindeki inflamatuar değişiklik kavramı, pars kompaktada aktifleşmiş HLA-pozitif mikrogliaların tanımlanmasıyla başlamıştır [150]. Daha sonra, beyin ve BOS'ta interlökin-1α (IL-1α), interlökin-1β (IL-1β) ve tümör nekroz faktörü-α (TNF-α) sitokinlerinde değişiklikler tespit edilmiş ve postmortem çalışmalarda aktif mikroglialarda indüklenebilir nitrik oksit sentaz bulunduğu gösterilmiştir [151]. Mikroglia aktivasyonunun ve inflamasyon değişikliğinin, nöronal yıkımın bir sonucu olduğu düşünülmekteydi; ancak Parkinson hastalığında daha genel bir sistemik inflamatuar reaksiyona yönelik kanıtlar bulunduğu için bunun bazı vakalarda nöronal kaybın birincil

nedeni olduğu tahmin edilmektedir [4]. Buna ek olarak; periferik inflamasyonun, substantia nigrada meydana gelen inflamatuar değişimin olumsuz etkilerini artırabileceği belirtilmektedir [152].

Eksitotoksik mekanizmalar

Eksitotoksisite, Parkinson hastalığında hücre ölümüne katkıda bulunduğu düşünülen patojenik mekanizmalar listesinde yer almaktadır [4]. Başlıca etken, glutamat salgılayan ve substantia nigra pars kompakta ile globus pallidusun iç segmentini innerve eden subtalamik çekirdeğin aşırı aktivitesidir [153, 154]. Ek olarak, kortikostriatal yoldan glutamaterjik girdinin değiştiğine dair kanıtlar bulunmaktadır [4]. Eksitotoksisitenin, Parkinson hastalığında ortaya çıkan mitokondrinin işlev bozukluğundan da kaynaklanabileceği bildirilmiştir [4]. Pars kompaktada nöron kaybının başlamasıyla birlikte Parkinson hastalığı geliştikçe subtalamik çekirdeğinten gelen glutamaterjik girdinin artan aktivitesinin hücre ölümünü güçlendirdiği düşünülmektedir ve subtalamik çekirdek lezyonlarının, pars kompaktaya 6-hidroksidopamin (6-OHDA) enjeksiyonu yapılmasıyla indüklenen dopaminerjik nöron kaybını azalttığı gösterilmiştir [4, 57, 155, 156]. Subtalamik çekirdekten globus pallidusa giden glutamaterjik çıkış yollarının aşırı aktivitesinin de Parkinson hastalığının bazı klinik semptomlarının gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir [4]. Bu yüzden, derin beyin stimülasyonunun subtalamik çekirdeğin aşırı aktivitesini düzeltebileceği ve Parkinson hastalığında klinik bir fayda sağlayabileceği düşünülmektedir [4]. Parkinson hastalığında derin beyin stimülasyonunun kullanıldığı araştırmalarda, bu durum motor semptomların ilerlememesi ile ilişkilendirilmiştir [157].

2.8. Lipoprotein Metabolizması

Lipoproteinler, plazmanın hidrofilik ortamında hidrofobik maddeleri taşıyan lipidli protein partikülleridir [158]. Hidratlı yoğunluklarının artış sırasına göre şilomikronlar, VLDL, IDL, LDL ve HDL olarak sınıflandırılırlar [158]. IDL terimi ile kalıntı parçacıklar terimi genellikle birbirinin yerine kullanılmaktadır; ancak VLDL kalıntıları hem IDL fraksiyonunda (1,006 -1019 kg/L) hem de VLDL fraksiyonunda (<1,006 kg/L) dağılabildiğinden eşdeğerlik tam değildir [158]. Bir lipoprotein partikülünün yüzeyi fosfolipidler ve kolesterol gibi hidrofilik veya amfipatik maddelerin yanı sıra reseptör

bağlayıcı ve düzenleyici proteinler olarak görev yapan apolipoproteinlerden oluşmaktadır [158]. Bu partiküllerin çekirdekleri trigliseritler (TG) ve kolesteril esterler gibi hidrofobik molekülleri içermektedir [158]. Lipoproteinler boyut, lipid içeriği ve apolipoprotein içeriği bakımından farklılık göstermektedir [158]. Bu özellikler lipoprotein lipaz (LPL), hepatik trigliserit lipaz (HTGL), lesitin-kolesterol asiltransferaz (LCAT) ve kolesteril ester transfer proteini (CETP) gibi enzimlerin etkisi sonucunda değişir [159-163]. Bu enzimlerin aktivitelerini düzenleyen apolipoproteinler farklı lipoprotein sınıfları arasında transfer yapabilir [158]. Lipoprotein birleşimi ve metabolizması, apolipoprotein içeriğinden ve konformasyonlarından etkilenir [158]. Apolipoproteinler, membran lipoprotein reseptörlerine bağlanarak lipoproteinlerin hücresel alımını kontrol eder [158]. Apolipoprotein B-100 (apo B-100) ve apolipoprotein E (apo E), apo B/E reseptörüne (LDL reseptörü, LDLR) bağlanır [164]. Apo E ayrıca LDLR ile ilişkili proteine (LRP) de bağlanırken apo A, çöpçü reseptörü sınıf B tip I (SR-BI)'ya bağlanır [165, 166]. Dokular arasında TG dağılımını sağlayarak vücut enerji metabolizmasına katkıda bulunan lipoproteinler, ekstraselüler bir rezervuar ve kolesterolün taşınması için de bir araç görevi görürler [158].

TG taşıma işlevi şilomikronlar ve VLDL tarafından paylaşılır [158]. Şilomikronlar açlık-tokluk döngüsünün emilim fazı sırasında toplanırken, VLDL plazmada herhangi bir zamanda bulunabilir [158]. TG, apo B-48 şablonu üzerinden enterositlerdeki şilomikronlara dahil edilir ve lenf içine salgılanır [167]. Apo B-48, apolipoprotein A-IV (apo A-IV) ve apolipoprotein A-V (apo A-V) içeren yeni oluşan şilomikronlar daha sonra muhtemelen HDL'den apo A-I, apo A-II, apolipoprotein C (C-I, C-II, C-III) ve apo E alırlar ve apo A-IV plazmaya salınır [158]. Periferde şilomikron TG, vasküler endotelde bulunan bir enzim olan LPL tarafından sindirilir ve yağ asitleri hücrelere salınır [158]. Şilomikronların boyutu küçülerek şilomikron kalıntıları haline gelirler ve apo A, apo C'nin çoğu ve büyük olasılıkla apo A-V, HDL'ye geri döner [158]. Kalıntılar LRP'ye ve apo E'nin aracılık ettiği LDLR’ye bağlandıktan sonra karaciğerde içselleştirilir [158]. Bağırsaktan emilen TG'nin aksine, endojen TG karaciğerden VLDL partikülleri halinde salgılanmaktadır [158]. Yeni oluşan VLDL tek apolipoprotein olarak apo B-100 içermektedir ve daha sonra çoğunlukla HDL'den apo A (A-I, A-II, A-IV), apo C (C-I, C-II ve C-III) ve apo E alırlar [158]. VLDL TG, şilomikronlara benzer şekilde LPL tarafından kısmen sindirilir ve bu da VLDL partiküllerini VLDL kalıntılarına dönüştürür [158, 168, 169]. VLDL kalıntıları apo E ile bağlanıp apo B ile bağlanmadıkları LDLR aracılığıyla

içselleştirilir [158]. TG bakımından zengin partiküller, CETP'nin aracılık ettiği bir süreçte kolesteril esterler karşılığında HDL'ye bir miktar TG kaybeder [170-172]. Kalıntıların içselleştirilmesi bu partikülleri karaciğere geri gönderir [158]. İçselleştirme, hepatik mikrovaskülasyondaki endotele bağlı olan HTGL tarafından daha fazla lipolize paralel olarak gerçekleşir [158]. Bu süreç sırasında kalıntılar apo C ve apo E'yi kaybederek HDL'ye aktarılır, boyutları küçülür ve LDL haline gelirler [173]. Böylece LDL partikülleri taşarak oluşur [158]. Bu süreç klinik açıdan önemlidir; çünkü aşırı arz veya verimsiz uzaklaştırma nedeniyle kalıntı arzı gereğinden fazla olduğunda daha çok LDL partikülü üretilir [158]. LDL'nin ana apolipoproteini olan apo B-100, LDLR'ye bağlanarak bunların içselleştirilmesini kontrol eder [158]. Apo B-100'ün LDLR'ye kalıntılardaki apo E'den daha az afinitesi vardır böylece LDL'nin dolaşımda kalma süresi kalıntılarınkini aşar [158]. LDL ekstraselüler kolesterol deposu görevi görür ve intraselüler kolesterol konsantrasyonundaki azalmanın bir sonucu olarak LDLR ekspresyonu arttığında hücresel alımları artar [158].

Ters kolesterol taşınması olarak bilinen HDL metabolizması, kolesterolün periferik hücrelerden karaciğere taşınmasını sağlayan bir yoldur [174-176]. HDL aynı zamanda kolesterolü VLDL ve kalıntı partiküllere geri ekleyerek karaciğerden uzaklaştırdığı için bu görüşün artık sorgulandığı bildirilmiştir [174]. Kolesterolün makrofajlardan karaciğere taşınması, dolaşımdaki HDL'nin yalnızca küçük bir kısmını içermektedir [158]. Bu nedenle HDL'nin, LDL'ye benzer şekilde, hücre dışı kolesterol havuzunun korunmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. HDL, apo A matrisi üzerinde toplanır [158]. Karaciğer ve bağırsak tarafından salgılanan apo A, ekstraselüler olarak lipidlenir ve fosfolipid bakımından zengin, disk şeklinde partiküller olan yeni (pre beta) HDL'ye dönüşür [158]. Bunlar, serbest kolesterolün hücrelerden çıkışını kontrol eden membran ATP-bağlayıcı kaset taşıyıcı A1'e (ABCA1) bağlanarak kolesterol alırlar [158]. Kolesterol daha sonra LCAT tarafından esterleştirilir [158]. Kolesteril esterlerin birikmesi partikülü küresel HDL3'e dönüştürür [158]. HDL3; kolesteril esterleri, apo A'yı, apo C'yi ve apo E 'yi TG karşılığında TG bakımından zengin lipoproteinlere aktarır [158]. Bu süreç HDL2 haline gelen HDL partiküllerini büyütür [158]. HDL2 daha sonra SR-BI'ya kenetlenerek kolesteril esterleri partikül içselleştirmesi yapmadan boşaltır [158].

2.8.1. Beyinde lipoprotein metabolizması

Vücuttaki en yüksek kolesterol seviyesi beyinde bulunur ve beyin tüm vücut kolesterolünün yaklaşık %20'sini içermektedir [177]. Beyindeki kolesterol çoğunlukla esterleşmemiş formda bulunur ve bu formdaki kolesterolün konsantrasyonu diğer dokulardakinden daha yüksektir [178]. KBB, lipoproteine bağlı kolesterolün kan dolaşımından alınmasını etkili bir şekilde önler [10]. Bu durumda, beyindeki kolesterol seviyesi periferik dokulardakinden bağımsızdır ve bu nedenle beyindeki neredeyse tüm kolesterolden *de novo* sentezin sorumlu olduğu düşünülmektedir [177]. Kolesterol üretimi esas olarak glia hücrelerinde gözlenir ve astrositlerde nöronlardan daha yüksek oranlarda üretilir [178, 179]. Embriyonik dönemde, hem nöronlar hem de glia hücreleri miyelinogenez için aktif olarak kolesterol sentezler [10]. Bununla birlikte yetişkinlerde, farklılaşmış nöronlar *de novo* sentez yeteneklerini yavaş yavaş kaybederler ve glia hücreleri tarafından üretilen lipoprotein-konjuge kolesterole ihtiyaç duyarlar [178]. Nöronlarda kolesterol sentezinin koşullu olarak kesilmesi, spesifik nörodejenerasyon veya inflamasyon göstermez ve LRP1 gibi kolesterol alım reseptörlerinin miktarında da değişiklik yaratmaz [180]. Bununla birlikte, glia hücreleri tarafından üretilip nöronlar tarafından alınan kolesterol miktarları önemli ölçüde artar ve nöronların astrositler tarafından üretilen kolesterole bağımlılığını destekler [10, 180]. Kolesterol KBB'yi geçemese de bazı kolesteroller plazma lipoproteinine bağlı kolesterol şeklinde beyne emilir [181, 182]. Hepatositlerde HDL kolesterolün seçici emiliminde önemli bir rol oynayan SR-BI, beyin kapiller endotel hücrelerinde de bulunur ve böylece plazma HDL ve LDL'sinden kolesterol alımına aracılık eder [182, 183]. Beyin endotel hücrelerinin luminal LDLR aracılığıyla LDL kolesterolünü alma ve bu LDL'yi hücreler arasında translokasyona uğratma potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir [184]. Beyin kolesterolünün yarı ömrü son derece uzundur. İnsanlarda beyindeki kolesterolün yarı ömrünün 6 ay ile 5 yıl arasında olduğu tahmin edilirken, plazmadaki kolesterolün yarı ömrü sadece birkaç gündür [185]. Beyindeki fazla kolesterol, toplam kolesterol içeriğinin %1'ine karşılık gelen esterleşmiş formda depolanır [186]. Kolesterol, kolesterol 24-hidroksilaz tarafından 24-HC'ye hidroksillenebilir ve bu oksisterol formu beyinden atılan kolesterolün ana formudur [187]. Kolesterol 24-hidroksilazın ekspresyon seviyesi, nöronlarda glia hücrelerine göre çok daha yüksektir [188-190]. 24-HC, KBB gibi lipofilik membranları geçebilir [10]. 24-HC'ye benzer karakterde olan 27-HC de beyinde bulunur [191]. Beyinde düşük miktarlarda bulunan 27-HC'nin de KBB'yi geçebilme özelliği vardır [191].

Plazmadaki lipoproteinlerin çoğu KBB nedeniyle beyinde bulunmaz; ancak beyinde yaklaşık olarak 8 ila 12 nm büyüklüğünde olan fosfolipid, kolesterol ve apolipoprotein içeren diskoidal bir protein tanımlanmıştır [181, 192]. Bu lipoprotein, boyut ve yoğunluk bakımından plazma HDL'sine benzediği için 'HDL benzeri partikül' olarak adlandırılmıştır [181]. Beyindeki lipoprotein üretiminin çoğundan astrositlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir [193-195]. BOS'ta bulunan lipoproteinlerin çoğu küresel formdadır ve astrositlerden salgılanan az miktarda lipitlenmiş HDL'den boyut olarak farklıdır [10, 196]. Bu durum astrositlerden salgılanan lipoproteinlerin plazma HDL'si gibi modifiye edildiğini düşündürmektedir [10, 196]. Yeni oluşan HDL'den küresel HDL oluşumunu desteklediği bilinen LCAT, CETP ve fosfolipid transfer proteini (PLTP) gibi bazı kolesterol yeniden şekillendirici enzimler beyinde bulunmuştur ve bunların beyin lipoprotein modifikasyonunda rol oynayabilecekleri bildirilmiştir [10, 197-200]. Apo E ve apo A-I, beyinde bulunan başlıca apolipoprotein formlarıdır ve apolipoprotein J (apo J), apo A-II, apo A-IV, apolipoprotein D (apo D) ve apolipoprotein H (apo H) gibi diğer apolipoproteinlerin insan BOS örneklerinde gözlendiği rapor edilmiştir [196, 201]. Bu apolipoproteinler HDL benzeri partiküller oluşturur [10]. Karaciğerden sonra ikinci en büyük apo E üreticisi beyinde apo E esas olarak astrositlerde üretilir ve bunu oligodendrositler, mikroglia ve ependimal tabaka hücreleri izler [202-204]. Nöronlarda apo E, belirli bir stres durumu veya hasar meydana geldiğinde üretilir [205]. Apo E'nin ana işlevi, nöronlar ve glia hücreleri arasında lipit taşınmasını ve lipoproteine bağlı kolesterolün metabolizmasını düzenlemektir [197]. Apo A-I beyinde sentezlenmez; ancak büyük bir kısmının koroid pleksus boyunca SR-BI aracılı alım yoluyla plazma HDL'sinden taşınıyor olabileceği tahmin edilmektedir [182, 206]. Beyinde LDLR, VLDLR, ApoER2/LRP8, LRP4/MEGF7, LRP1, LRP1B ve megalin/LRP2 olmak üzere yedi temel üye ve LDLR ailesinin LRP5, LRP6 ve SorLA/LR11 olmak üzere üç alt grubu bulunmaktadır [207, 208]. Apo E, beyinde eksprese edilen bu LDLR ailesi üyeleri için bir ligand görevi görür [208]. LRP1 ve LDLR, nöronlar ve glia hücreleri arasında kolesterol taşıyan lipoproteinler içeren apo E ile ilişkili başlıca reseptörlerdir [209]. LRP1 çeşitli işlevleri olan büyük bir endositik reseptördür [10]. Beyinde, LRP1 ağırlıklı olarak nöronlar olmak üzere hem nöronlar hem de glia hücreleri tarafından eksprese edilir [210]. LDLR de ağırlıklı olarak glia hücreleri olmak üzere hem nöronlar hem de glia hücreleri tarafından eksprese edilir [211].

BOS'ta belirlenebilir düzeyde LDL bulunmamasına rağmen, hassas manyeto floresan

testleri kullanılarak önemli miktarda apo B proteininin saptandığı ve RNA-Seq teknikleri kullanılarak beyin APOB haberci RNA (mRNA)'sının tespit edildiği bildirilmiştir [212].

2.8.2. Apolipoprotein B

Apo B-48, 2152 amino asitten oluşur ve 264.000 Da'lık moleküler kütleye sahiptir [158, 213]. Apo B mRNA'sının düzenlenmesi sırasında bir sitidin (C^{6666}) nükleotidinin üridine deaminasyonu sonucunda stop kodonu oluşur ve böylece apo B-48 sentezlenir [158]. Apo B-48 enterositler tarafından sentezlenir ve şilomikronlar ile şilomikron kalıntılarında bulunur [158]. Apo B-48, LDLR bağlanma alanına sahip değildir; ancak şilomikron kalıntıları apo E yoluyla bağlandıkları LRP ve LDLR tarafından bir dereceye kadar vücut içine alınır [214]. 70-80 nm'den küçük partiküller vasküler duvara nüfuz edebilir [158]. Bu nedenle, yeni oluşan şilomikronlar olmasa da şilomikron kalıntıları aterojenik olarak kabul edilir [158]. Şilomikron kalıntıları HDL ile değişim yoluyla kolesteril esterler bakımından zenginleştirilir [215].

Apo B-100, 4536 amino asitten oluşur ve 550,000 Da'lık moleküler kütleye sahiptir [158]. N-terminal ucundan 27 amino asidin ayrılmasından sonra moleküler kütle 513,000 Da'ya düşer [216, 217]. Mikrozomal TG transfer proteinleri ile reaksiyona giren globüler bir amino-terminal alana sahiptir [218]. Apo B geni 2. kromozomun kısa kolunda yer alır [158]. Yapılan bir çalışmada apo B geninde yüz yirmi üç genetik varyant tespit edilmiştir [158]. Apo B polimorfizmleri arasında sinyal peptit ekleme/silme polimorfizmleri olan T2488T ve E4154K bulunmaktadır [158, 219]. Apo B-100'ün 3500 amino asit kalıntısındaki mutasyonu reseptör bağlanmasını etkiler ve ailesel defektif apo B (FDB) olarak bilinen bir bozukluğa yol açar [220]. Hepatositlerde sentezlenen apo B-100'ün fazlası hücre içinde parçalanır [158]. Apo B-100; VLDL, LDL ve LDL partiküllerinde lipoprotein partikülü başına bir molekül oranında bulunur dolayısıyla bu partiküllerin sayısının bir göstergesidir [158].

Apo B-100 ve apo B-48 tek bir genden üretilir. Apo B-48, apo B-100'ün kesik varyantıdır ve apobec1 tarafından üretilir [5, 11]. Apobec-1 bağırsak duvarında işlev gördüğünden, şilomikron partikülleri esas olarak apo B-48 içerir; ancak apo B-100 içermez [11]. Apo B-48 insanlarda eksojen lipoproteinin bir belirtecidir [11]. Apobec-1 insanların karaciğerinde eksprese edilmediğinden, VLDL partikülleri apo B-100 içerirken apo B-48 içermez; ancak,

fare ve sıçanların VLDL partikülleri hem apo B-100 hem de apo B-48 içerir; çünkü karaciğerlerinde apobec-1 eksprese edilir [11, 221]. Kobayların karaciğerindeki apo B mRNA düzenlenmesi (<%1), diğer türlerin karaciğerindeki apo B mRNA düzenlenmesine (%18-70) kıyasla ihmal edilebilir düzeydedir [221, 222]. LDL partikülleri somatik hücrelerin yüzeyinde bulunan LDLR'lere bağlanır [11]. Bu nedenle apo B-100, insanlarda endojen lipoproteinlerin bir belirtecidir [11]. Fare ve sıçanların endojen lipoproteinleri hem apo B-100 hem de apo B-48 içerir [11]. Apo B-100 içeren lipoproteinlere kıyasla apo B-48 içeren lipoproteinler için fraksiyonel katabolik hız çok daha yüksek olduğundan insanlara kıyasla vahşi tip fare ve sıçanlarda VLDL ve LDL konsantrasyonları çok daha düşüktür [11, 223].

2.8.3. Apolipoprotein B ve Parkinson hastalığı

Parkinson hastalığı olan hastaların yaklaşık %30'unun, hastalığın seyri sırasında Parkinson hastalığı demansı geliştirdiği belirtilmektedir [224]. Yapılan bir çalışmada Parkinson hastalarında demans gelişimi için risk değerlendirmesine olanak sağlayacak nörokimyasal bir belirteç araştırılmıştır. Çalışma kapsamında demanssız kontroller, Parkinson hastaları ve demansı olan Parkinson hastalarından elde edilen BOS örneklerinde biyobelirteç adaylarının belirlenmesi için iTRAQ yöntemi kullanılmıştır. Çalışma sonunda demanssız kontrollerle kıyaslandığında Parkinson hastalarında apo B-100'ün anlamlı olarak azaldığı rapor edilmiştir [224].

Yapılan farklı bir çalışmada demansı olmayan Parkinson hastaları, demansı olan Parkinson hastaları ve sağlıklı kontrollerden alınan plazma örnekleri incelenmiştir. Klinik verilere göre demansı olmayan ve demansı olan Parkinson hastalarının yaş ortalamalarının sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonunda demansı olan Parkinson hastalarında hiperkolesterolemi insidansının azaldığı ve daha düşük TG, LDL kolesterol ve apo B seviyelerinin ölçüldüğü rapor edilmiştir. Ayrıca araştırmacılar tarafından demansı olan Parkinson hastalarının plazma lipoproteinlerinde önemli ölçüde düşüş tespit edildiği ve bu yüzden lipid metabolik düzensizliğin Parkinson hastalığı demansının patogenezinde rol oynayabileceği bildirilmiştir [225].

Bazı çalışmalarda, Parkinson hastalarında daha düşük inme insidansı olduğu gösterilmiştir [187]. İnme için risk faktörleri olan lipid ve lipoproteinlerin inme prevalansının düşük

olduğu Parkinson hastalarındaki rolünün belirsiz olduğu rapor edilmiştir [226]. Retrospektif bir çalışmada Parkinson hastalarının serum lipid ve lipoprotein düzeyleri araştırılmıştır. Çalışma kapsamında 110 Parkinson hastası, 130 serebrovasküler olmayan nörolojik hastalıklara sahip kontrol bireyler, 140 akut intraserebral kanama hastası ve 140 akut serebral enfarktüs hastasının kayıtları kullanılmıştır. Çalışma sonunda diğer üç grupla kıyaslandığında Parkinson hastalarında anlamlı olarak daha düşük serum TG, VLDL kolesterol ve apo B değerlerinin saptandığı gösterilmiştir [226].

Yapılan bir çalışmada Parkinson hastalarının plazma patogenezi, entegre metabolomik ve proteomik analizleriyle incelenmiştir. Çalışma sonunda Parkinson hastalığının aktifleşmiş sfingolipid metabolizması ve azalmış apolipoproteinler (apo C-I, apo C-III, protein APOC4-APOC2, apo C-IV, apo B-48, apo B-100, apolipoprotein M (apo M)) dahil olmak üzere plazma lipid metabolik bozukluğu ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir [227].

Prospektif kohort çalışmasında, lipidler ve apolipoproteinlerin gelecekteki Parkinson hastalığı riski ile ilişkileri değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda daha yüksek toplam kolesterol, LDL kolesterol ve TG düzeylerinin gelecekte daha düşük Parkinson hastalığı riski ile ilişkili olduğu ve bu ilişkilerin nedensel olabileceği rapor edilmiştir. Ayrıca daha yüksek apo B düzeylerinin de daha düşük Parkinson hastalığı riski ile ilişkili olduğu fakat bu ilişkinin nedensel olup olmadığının incelenmesi gerektiği bildirilmiştir [228].

2021 yılında yayımlanmış bir çalışmada Parkinson hastalarında serum lipid düzeyleri ile nöropsikiyatrik semptomlar arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışma kapsamında Parkinson hastalarının hastalık evreleri Hoehn-Yahr ölçeği ile, nöropsikiyatrik belirtiler Hamilton depresyon derecelendirme ölçeği (HAMD), Hamilton anksiyete derecelendirme ölçeği (HAMA) ve mini mental durum muayene ölçeği ile değerlendirilmiştir. Araştırmacılar tarafından serum lipid düzeyleri ile nöropsikiyatrik semptomlar arasındaki ilişki, lineer regresyon analizleri ve korelasyon analizleri yapılarak incelenmiştir. Çalışma sonunda sağlıklı kontrollere göre Parkinson hastalarının serum TG seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı HDL kolesterol ve lipoprotein a seviyelerinin arttığı bildirilmiştir; ancak total kolesterol, LDL kolesterol, apo A-I ve apo B seviyelerinde istatistiksel bir anlam bulunmadığı rapor edilmiştir. Lineer regresyon analizleri sonucunda TG seviyelerinin esas olarak yaş ve HAMA skoru ile, HDL kolesterol seviyelerinin hastalık süresi ve cinsiyet ile, lipoprotein a seviyelerinin HAMD skoru ile korele olduğu doğrulanmıştır. Korelasyon

analizleri sonucunda lipoprotein a seviyeleri HAMD skoru ile negatif korelasyon gösterdiği zaman TG seviyelerinin HAMA skoru ile negatif korelasyon gösterdiği doğrulanmıştır. Sonuç olarak Parkinson hastalarında lipid metabolizmasının nöropsikiyatrik bozukluklarla önemli ölçüde ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [229].

Prospektif kohort çalışmalarında, Parkinson hastalığının risk faktörleri olarak farklı kan lipid fraksiyonları tanımlanmıştır. Bununla birlikte, ileri Parkinson hastalarında lipoprotein seviyelerini, hastalık fenotipleri ve progresyonla ilişkilendiren veriler azdır [230]. 2021 yılında yayımlanmış başka bir çalışmada ileri Parkinson hastalığında lipid düzeyleri ile motor ve bilişsel fonksiyon arasında güçlü ve tutarlı bir ilişki bulunmadığı rapor edilmiştir [230].

Hipertrigliserideminin kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde olduğu kadar nörodejenerasyon gelişiminde de ciddi bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir [231]. Yapılan bir çalışmada, araştırmacılar tarafından apo B-100 proteinini aşırı miktarda ifade eden transgenik farelerde serebrovasküler değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın sonunda, apo B-100 proteinini aşırı miktarda ifade eden transgenik farelerde kronik hipertrigliseridemi gelişim kinetiğinin tanımlandığı ve bu farelerin hipokampüsünde yapısal değişikliklerle birlikte artmış KBB geçirgenliğinin tespit edildiği bildirilmiştir. Ayrıca transmisyon elektron mikroskobu ile beyin kapilerlerindeki endotelyal sıkı bağlantı yapısında değişikliklerin ve astrosit uç ayaklarında ödemli şişmenin gözlemlendiği rapor edilmiştir. Kantitatif real-time PCR kullanılarak apo B-100 proteinini aşırı miktarda ifade eden transgenik farelerden izole edilen beyin mikrodamarlarında Lox-1, Aqp4 ifadelenmesinin arttığı; Meox-2, Mfsd2a, Abcb1a, Lrp2, Glut-1, Nos2, Nos3, Vim ifadelenmesinin azaldığı ve transgenik beyinlerde Cdh2, Gfap-σ ifadelenmesinin azaldığı bildirilmiştir. Araştırmacılar tarafından konfokal mikroskopi kullanılarak immün işaretleme yapılmış transgenik fare beyinlerinde nörovasküler ünite ile ilgili azalmış P-glikoprotein (ABCB1) ve vimentin ekspresyonu doğrulanmıştır. Sonuç olarak kronik hipertrigliseridemik apo B-100 proteinini aşırı miktarda ifade eden transgenik farelerde hem fonksiyonel hem de morfolojik serebrovasküler patolojinin gözlemlenebileceği ve bu hayvan modelinin serebrovasküler patoloji ile nörodejenerasyon arasındaki bağlantıyı incelemek için faydalı olabileceği rapor edilmiştir [231].

Mitokondriyal disfonksiyon ve UPS yetmezliğinin, Parkinson hastalığının gelişiminde

önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir [232]. Düzenleyici (19S) alt parçacık üzerinde yer alan proteazom alt birimi Rpn13'ün, degradasyona maruz kalan proteinlerin proteazomun proteolitik (20S) kısmına iletilmesinde önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir [193]. Yapılan bir çalışmada, nörotoksin MPTP ve nöroprotektör isatinin, fare beyninin Rpn13 bağlayıcı proteinlerinin mitokondriyal alt proteomu üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında fareler her bir grupta 6-8 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır: Kontrol grubu, MPTP grubu, isatin grubu ve MPTP+isatin grubu. Çalışma sonunda MPTP (30 mg/kg) uygulamasının farelerde Parkinson hastalığına özgü hareket bozukluklarına neden olduğu ve isatin ile ön tedavinin (100 mg/kg, MPTP'den 30 dakika (dk) önce) bu hareket bozukluklarının şiddetini azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca; MPTP, isatin ve MPTP+isatin enjeksiyonunun, Rpn13 bağlayıcı proteinlerin toplam sayısı ve bileşimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MPTP enjeksiyonunun Rpn13 bağlayıcı protein sayısını azalttığı ve MPTP+isatin veya sadece isatin enjeksiyonunun esas olarak protein metabolizması düzenlenmesine, gen ekspresyonuna, hücre bölünmesine ve farklılaşmasına katılan proteinlerin fonksiyonel grupları olmak üzere başlıca bu Rpn13 bağlayıcı proteinlerin sayısında önemli ölçüde bir artışa neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca lipid metabolizmasında yer alan bir protein olan apo B-100, yalnızca MPTP+isatin enjeksiyonu uygulanan fare grubunda tespit edilmiştir ve bu verinin bilimsel yorumlanması yapılmamıştır. Sonuç olarak deneysel MPTP ile indüklenen parkinsonizm koşulları altında, isatinin nöroprotektif etkisinin, mitokondri ile UPS bileşenleri arasındaki etkileşimi hedefleyebileceği belirtilmiştir [232].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları Ve Deney Protokolü

Çalışmada Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan (Kobay A.Ş.) temin edilen, ağırlıkları 300-350 g arasında değişen 23 adet dişi ve erkek kobay (8-10 haftalık Hartley albino Guinea pig (*Cavia porcellus*)) kullanıldı. Kobaylarda yapılan deneyler Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (GÜDAM) gerçekleştirildi. 23 adet dişi ve erkek kobay; kontrol grubunda 6 dişi, 5 erkek olmak üzere 11 adet kobay ve deney grubunda 6 dişi, 6 erkek olmak üzere 12 adet kobay olacak şekilde rastgele 2 gruba ayrıldı: Kontrol Grubu (Control Group, CG) ve Deney Grubu (Experimental Group, EG). Daha sonra kontrol grubundaki kobaylar kendi içinde cinsiyetlerine göre Kontrol Dişi (Control Female, CF) (n=6 adet dişi) ve Kontrol Erkek (Control Male, CM) (n=5 adet erkek) olarak isimlendirildi. Deney grubundaki kobaylar da kendi içinde cinsiyetlerine göre Deney Dişi (Experimental Female, EF) (n= 6 adet dişi) ve Deney Erkek (Experimental Male, EM) (n=6 adet erkek) olarak isimlendirildi. 12 hafta boyunca ayrı kafeslerde (1 kafeste aynı cinsiyette 2-3 adet kobay olacak şekilde), 12 saat aydınlık-karanlık siklusta ve 20 ± 2 ^{o}C'lik ortamda olacak şekilde kontrol grubundaki kobaylara standart chow diyet* ve su, deney grubundaki kobaylara kolesterol içeren yüksek yağlı diyet** ve su *ad libitum* olarak verildi [233-237]. İki diyet de 'ARDEN Araştırma & Deney' tarafından hazırlandı.

*: %3 yağ, %16 ham protein, %12,5 ham selüloz, %10 ham kül [6]

**: %15,5 yağ, %22 ham protein, %12 selüloz, %41,3 karbonhidrat, %1,5 mineral mix, %1 vitamin mix, %0.33 kolesterol [222, 238-241]

Not-1: Chow diyet ve kolesterol içeren yüksek yağlı diyet içeriklerinin açıklamasında kullanılan yüzdeler ham besin değerleri açısından g/100g cinsinde olmak üzere referanslar göz önünde bulundurularak verilmiştir. İki diyet de C vitamini içermediğinden hem kontrol grubunun hem de deney grubunun günlük olarak değiştirilen suyuna 1000 mg / 1 L C vitamini eklendi [242]. Ayrıca C vitamini takviyesi için haftada 1-2 kez olacak şekilde hem kontrol hem de deney grubuna az ve eşit miktarda taze, yıkanmış havuç veya göbek marul verildi [243].

Not-2: Yağ karışımı sırasıyla 1 : 2 : 1.8 oranlarında zeytinyağı (olive oil) / yağ hurması çekirdeği yağı (palm kernel oil) / aspir yağı (safflower oil) içermektedir.

Not-3: 24 adet kobay, Kobay A.Ş.'den getirildikten sonra GÜDAM'da bir hafta boyunca

karantinada bekletildi. Karantina sürecinde erkek kobaylardan biri öldü. Bu yüzden deneye 23 adet kobay ile başlandı. Deney başlangıcında rastgele gruplandırma yapıldıktan sonra her kobay tartıldı. Deney boyunca haftada bir kez ve deney sonunda hayvanlar feda edilmeden 1 gün önce aynı saatte (11:00-13:00 arası) tartım yapıldı. Ayrıca rutin sağlık takibi için deney boyunca her gün aynı saatte (11:00-13:00 arası) yem tartımı yapıldı; ancak kafes tipinden dolayı kobayların bireysel olarak tükettiği günlük yem miktarı belirlenemediği için elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmedi.

3.2. Deneklerde Ötenazi, Örneklerin Toplanması Ve Saklanması

12 hafta sonunda kobayların her birine sodyum tiyopental (100 mg/kg i.p.) ile anestezi [233] uygulanarak sırtüstü pozisyonda yatırıldı ve kobaylar derin anestezi altında intrakardiyak kan alınması ile feda edildi. Kardiyak punktur yöntemiyle elde edilen ve serum tüplerinde toplanan kan örnekleri 2-8 °C'de 15-20 dk boyunca 1000-2000 x g'de santrifüjlendi, süpernatantlar düşük bağlayıcılı mikrosantrifüj tüplerine aktarılıp ELISA ve biyokimyasal analize kadar -80 °C'de saklandı. Elde edilen beyin ve beyincik dokuları ise sagittal düzlemde tam ortadan olacak şekilde ikiye bölündükten sonra bir yarıları RT-qPCR ve ELISA için diseke edilip sıvı nitrojende dondurularak analize kadar -80 °C'de saklandı, diğer yarıları ise histokimyasal ve immünohistokimyasal analizler için %4'lük paraformaldehit fiksatifi içine alındı. Fiksatifteki dokular optimum süre sonunda ışık mikroskop doku takibi işleminden geçirilip parafine gömüldü. Çalışmanın amacı doğrultusunda verilerin elde edilebilmesi için PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1) ve SNCA genlerinin ekspresyonları ile apo B-100 reseptörü olan LDLR geninin ekspresyonu RT-qPCR yöntemi ile analiz edildi. Beyin ve beyincik dokularında PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve tirozin hidroksilaz protein yoğunluklarının belirlenebilmesi için immünohistokimyasal işaretleme yapıldı. Apo B-100 miktarı serumda, beyin ve beyincik dokularında ELISA ile kantitatif olarak belirlendi. Serum örneklerinde CHOL, GLU, HDL ve LDL seviyelerinin ölçümü Diagen Biyoteknolojik Sistemler Anonim Şirketi tarafından yapıldı.

3.3. Işık Mikroskop Takibi

Kobaylardan elde edilen beyin ve beyincik dokularının her bir yarısı %4'lük paraformaldehit fiksatifinde tespit edildi. Dokular, çalkalama cihazı üzerinde 8x30 dk

boyunca distile su ile yıkandı. Yıkama işleminin ardından aşağıdaki işlem basamaklarına riayet edilerek dokular takibe alındı;

1) Distile su → 1 saat
2) %70 etil alkol → 1 saat
3) %80 etil alkol → 1 saat
4) %96 etil alkol → 1 saat
5) %96 etil alkol → 1 saat
6) %96 etil alkol → 1 saat
7) %96 etil alkol → 1 saat
8) Ksilol I → 1 saat
9) Ksilol II → 1 saat
10) Ksilol III → 1 saat
11) Parafin I → 1 saat
12) Parafin II → 1 saat
13) Parafin içinde bloklama

Hazırlanan bloklardan 4 mikron (μ) kalınlığında kesitler alınarak histokimyasal boyama ve immünohistokimyasal işaretlemeler yapıldı.

3.4. Histokimyasal Analiz

3.4.1. Hematoksilen-eozin (H&E) boyama yöntemi

Kullanılan solüsyonlar;

1) Hematoksilen solüsyonu
2) Distile su + hidroklorik asit (HCL) solüsyonu
3) Eozin solüsyonu.

Yöntem basamakları;

1) Rodajlı düz lama alınan kesitler, üzerlerindeki parafinin erimesi için etüvde 62 ºC'de 2 saat boyunca bekletildi.
2) 2x15 dk boyunca ksilolde bekletildi.
3) Havada ksilol uçana kadar kurutulduktan sonra 5'er dk boyunca sırasıyla azalan alkol serilerinde (%100, %96, %80, %70 ve %50 etil alkolde) bekletildi.
4) 10 dk boyunca akar suda yıkandı.

5) 10-15 dk boyunca Mayer’s hematoksilende bekletilip sonrasında 10 dk boyunca akar suda yıkandı.
6) 291 ml distile su + 9 ml HCL karışımına batırılarak 1-2 dip yapıldıktan 10 dk boyunca akar suda yıkandı.
7) 10-15 dk boyunca eozinde bekletilip sonrasında yıkama suyu berraklaşana kadar akar suda yıkandı.
8) Her birinde 1-2 dip yapılarak artan alkol serilerinden (%50, %70, %80, %96 ve %100 etil alkolde) hızlıca geçirildi.
9) Havada alkol uçana kadar kurutulduktan sonra 2x15 dk boyunca ksilolde bekletilip entellan ile kapatma işlemi yapıldı.

Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sistemi ile Leica LAS V4.9 programı kullanılarak fotoğraflandı. H&E boyama yöntemi ile boyanan her bir deneğe ait beyin korteksi, orta beyin ve beyincik kesitleri değerlendirildi. Literatürde yer alan önceki hayvan çalışmalarında tanımlanan Parkinson hastalığı ile ilişkili değerlendirme parametreleri şunlardır: nöronal kayıp, piknotik çekirdek, perinöronal vakuolizasyon ve Lewy cisimciği oluşumu [244-249].

3.4.2. Nötral red boyama yöntemi

Kullanılan solüsyonlar [250]:

1) Distile suda hazırlanan %2’lik nötral red stok çözeltisi (hazırlanan çözelti bir filtre kağıdı yardımıyla filtre edildi)
2) 0.2 M fosfat tamponu (pH: 4,8)

Not: Kullanmadan önce nötral red stok çözeltisi ve 0.2 M fosfat tamponu (pH: 4,8) hacimce 1:1 oranında karıştırılarak çalışma solüsyonu oluşturuldu.

Yöntem basamakları:

1) Rodajlı düz lama alınan kesitler, üzerlerindeki parafinin erimesi için etüvde 62 ºC’de 2 saat boyunca bekletildi.
2) 2x15 dk boyunca ksilolde bekletildi.
3) Havada ksilol uçana kadar kurutulduktan sonra 5’er dk boyunca sırasıyla azalan alkol serilerinde (%100, %96, %80, %70 ve %50 etil alkolde) bekletildi.
4) 10 dk boyunca akar suda yıkandı.
5) 15 dk boyunca çalışma solüsyonunda bekletildi [250].

6) Distile suda 2x5 dk boyunca yıkama işlemi yapıldı.
7) Artan alkol serilerinden (%50, %70, %80, %96 ve %100 etil alkolde) hızlıca geçirildi.
8) Havada alkol uçana kadar kurutulduktan sonra 2x15 dk boyunca ksilolde bekletilip entellan ile kapatma işlemi yapıldı.

Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sistemi ile Leica LAS V4.9 programı kullanılarak fotoğraflandı. Nötral red boyası, yaygın olarak kullanılan Nissl boyalarından biridir. Nötral red boyama yöntemi ile boyanan her bir deneğe ait beyin korteksi, orta beyin ve beyincik kesitleri değerlendirildi.

3.5. İmmünohistokimyasal Analiz

PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve tirozin hidroksilaz (TH) immün işaretlemesi [251]: İmmünohistokimyasal işaretlemeler için polilizinli lamlara alınan 4 μm kalınlığındaki beyin ve beyincik kesitleri 62 ºC' deki etüvde 2 saat bekletildi. Kesitler, deparafinizasyonu tamamlamak için 2x15 dk boyunca ksilende bekletildi. Daha sonra 3'er dk boyunca sırasıyla %100, %96, %90, %80 ve %70'lik alkol serilerinde bekletildi. Dehidrate edilen kesitler, alkolden arındırılmak için 2x5 dk boyunca distile suda bekletildi. Daha sonra kesitlere sitrat tamponu (pH: 6,0) ile mikrodalga fırında retriver işlemi uygulandı. Mikrodalgadan çıkan sitrat tamponundaki dokular 20 dk boyunca dışarıda soğumaya bırakıldı. Daha sonra kesitler sitrattan arındırılmak için 2x5 dk boyunca distile suda bekletildi. Kesitlerin etrafı PAP-Pen ile çevrildikten sonra lamlar nemli ortam oluşturulan immünohistokimya barına dizildi. Kesitler 3x3 dk boyunca PBS (Phosphate Buffer Saline, pH: 7,4) ile yıkandı. Daha sonra, 15 dk boyunca %3'lük hidrojen peroksit ile inkübe edilen kesitlerde endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. İşlem sonrasında kesitler, PBS ile 3x3 dk boyuca yıkandı. Yıkanan kesitlere 6-7 dk boyunca UltraV block (Cat: TP-060-HL, Lot: PHL945, UltraVision Detection System Anti-Polyvalent, HRP (RTU), Thermo Scientific, USA) uygulanarak, özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bu işlemden sonra kesitler yıkanmadan primer antikor aşamasına geçildi. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan Çizelge 3.1'de verilen dilüsyon oranlarında, Large Voluma UltrAb Diluent (Cat: TA-125-UD, Lot: UD51340, Thermo Scientific, USA) ile dilüe edilerek hazırlanan PARK2 (PARKIN) (Cat: PA1-18265, Invitrogen, USA), PARK6 (PINK1) (Cat:

orb331223, Biorbyt, UK), SNCA (α-synuclein) (Cat: bs-0009R, Bioss Antibodies, USA), LDLR (Cat: bs-0705R, Bioss Antibodies, USA), phospho-PARKIN (Ser65) (Cat: orb312554, Biorbyt, UK), phospho-PINK1 (Ser228) (Cat: PA5-105356, Invitrogen, USA), phospho-alpha-synuclein (Ser129) (Cat: PA5-104885, Invitrogen, USA) ve tirozin hidroksilaz (Cat: bs-0016R, Bioss Antibodies, USA), primer antikorlarıyla 4ºC' de 1 gece inkübe edildi. Primer antikordan sonra kesitler 3x3 dk boyunca PBS ile yıkandı. Daha sonra kesitler 30 dk boyunca biotinli anti-polivalan (Cat: TP-060-HL, Lot: PHL945, UltraVision Detection System Anti-Polyvalent, HRP (RTU), Thermo Scientific, USA) ile inkübe edildi. İşlem sonunda kesitler yine 3x3 dk boyunca PBS ile yıkandı. Sonra kesitler 30 dk boyunca streptavidin peroksidaz (Cat: TP-060-HL, Lot: PHL945, UltraVision Detection System Anti-Polyvalent, HRP (RTU), Thermo Scientific, USA) ile inkübe edildi ve işlem sonunda 3x3 dk boyunca PBS ile yıkandı. Son olarak kesitler aminoetil karbazol (AEC) kromojeni (Cat: TA-125-HAS, Lot: HAS61420, UltraVision Detection System Large Volume AEC Substrate System (RTU), Thermo Scientific, USA) ile inkübe edilerek gözle görülebilir immün tepkimenin ortaya çıkması sağlandı. 2x5 dk boyunca distile su ile yıkanan kesitlerin zemin boyaması için Mayer's hematoksileni kullanılarak akar suda yıkama yapıldı. Lamlara su bazlı kapatma mediumu damlatılarak kapatma işlemi yapıldı.

Çizelge 3.1. Primer antikorların dilüsyon oranları

Primer Antikor	**Dilüsyon Oranı**	
	Beyin	**Beyincik**
PARK2 (PARKIN)	1/1000	1/1000
PARK6 (PINK1)	1/50	1/300
SNCA	1/100	1/200
LDLR	1/200	1/200
fosfo-PARKIN	1/300	1/300
fosfo-PINK1	1/50	1/50
fosfo-SNCA	1/50	1/50
Tirozin Hidroksilaz	1/200	1/200

Kesitler, Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sistemi ile Leica LAS V4.9 programı kullanılarak fotoğraflandı. İmmünohistokimyasal işaretleme yapılarak hazırlanan her bir kesitten 400X büyütmede rastgele 6 tane alan seçildi. İmmünpozitif

alanların yoğunluğu, ImageJ programı (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, Maryland, ABD) kullanılarak yüzde olarak belirlendi. Değerlendirmelerin sonunda her bir primer antikorun immünohistokimyasal tutulum yoğunluğu için istatistiksel veri oluşturuldu.

3.6. Biyokimyasal Analiz

Serum örneklerinde CHOL, GLU, HDL ve LDL seviyelerinin ölçümü Diagen Biyoteknolojik Sistemler Anonim Şirketi tarafından yapıldı. Ölçümlerin sonunda her bir parametre için istatistiksel veri oluşturuldu.

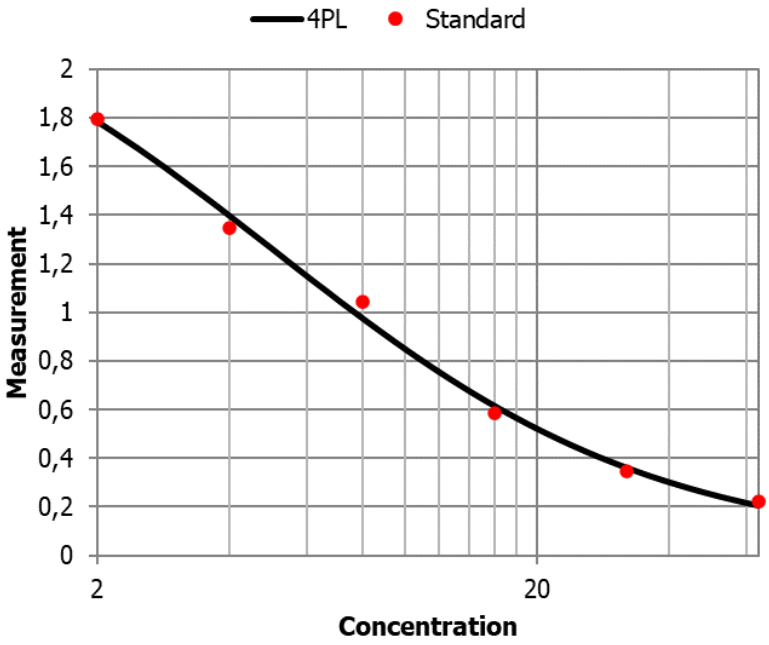
3.7. ELISA

Kobaylardan elde edilen serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B düzeylerinin ölçümünde Guineapig Guinea pig Apolipoprotein B ELISA kiti (BT LAB: Bioassay Technology Laboratory, Katalog no: EA0004Gp, China) kullanıldı.

Doku homojenizasyonu: Kobaylardan elde edilen beyin ve beyincik dokularının homojenizasyonu apo B düzeylerinin ölçümünde kullanılan Guineapig Guinea pig Apolipoprotein B ELISA kitinin (BT LAB: Bioassay Technology Laboratory, Katalog no: EA0004Gp, China) protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. Önce PBS (pH: 7,4) ile yıkanan dokular homojenizatör yardımıyla homojenize edildi ve homojenat santrifüj edilerek supernatant eldesi gerçekleştirildi.

Protokol: Kit protokolüne uygun olarak tüm reaktifler, numuneler ve standartlar hazırlandı ve kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Sonrasında önceden primer antikorla kaplanmış kuyucuklara 50 µL standard + 50 µL biotinli antijen ve 50 µL numune + 50 µL biotinli antijen eklenip 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Aspirasyon işleminden sonra yıkama yapıldı. Daha sonra her kuyucuğa 50 µL avidin-HRP eklendi ve 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Tekrardan aspirasyon işlemi yapıldı ve yıkama gerçekleştirildi. Sonra her kuyucuğa önce 50 µL substrat solüsyonu A sonra da 50 µL substrat solüsyonu B eklendi ve 37 °C'de 10 dk boyunca karanlık ortamda inkübe edildi. Daha sonra her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu eklendi ve plate'in optik yoğunluğu (optical density, OD value) mikroplate okuyucu ile 450 nm'de ölçüldü. ELISA'da sonuçların hesaplanması, testin başarısı için büyük önem taşımaktadır. Böylece her bir standart ve numune seti için absorbans

değerlerinin ortalaması alındı ve Şekil 3.1'deki standart eğri oluşturuldu. Standart eğri üzerinden apo B'nin konsantrasyonu hesaplandı.



Şekil 3.1. Standart eğri.

3.8. Real Time qPCR Yöntemi

Total RNA Ekstraksiyonu: Yüksek kalitede total RNA ekstraksiyonu sağlamak için TRIzol Reagent kullanıldı. Trizol Reagent kullanılarak yapılan ekstraksiyon aşaması faz ayrımı ve bir dizi nükleik asit çöktürme işlemlerine dayanmaktadır. 50-100 mg beyin ve beyincik dokusu vida kapaklı tüplere aktarılarak içerisine 1 ml TRIzol reagent solüsyonu ve manyetik boncuk (yaklaşık 10 tane) ilave edildi. Doku süspansiyonları FP120 FASTPREP (Thermo, USA) homojenizatör cihazı kullanılarak 4,0 hızda 2x20 saniye boyunca fiziksel olarak parçalandı. RNA ve DNA ayrımı için kloroform eklenen süspansiyon, dikkatlice vortekslendi ve oda sıcaklığında 3 dk inkübe edildikten sonra +4 °C'de 12000 G hızda 15 dk boyunca santrifüj edildi. Farklı bir mikrosantrifüj tüpe aktarılan süpernatant içerisine isopropanol eklendi ve karışım 10 dk boyunca -20 °C'de bekletildikten sonra +4 °C'de 12,000 G hızda 10 dk boyunca santrifüj işlemi edildi. Üstte kalan sıvı kısım atıldıktan sonra altta kalan RNA peletine %75'lik etanol eklendi ve +4 °C'de 7500 G hızda 5 dk boyunca tekrar santrifüj işlemi yapıldı. Üstte kalan etanol mikrosantrifuj tüpünden uzaklaştırıldı ve RNA peleti kuruyana kadar oda sıcaklığında bekletildi. Nükleaz-free

elution bufer eklenen pelet süspanse edildi ve dokulara ait total RNA'lar -20 °C'de muhafaza edildi.

Nükleik Asitlerin Nananogram (ng) Değerlerinin ve Konsantrasyonlarının Belirlenmesi: Colibri+ Microvolume Spektro (Titertek Berthold, Germany) cihazı kullanılarak dokuların RNA ölçümleri gerçekleştirildi. Cihaz kapağı açıldıktan sonra elüsyon bufferdan 2 µL eklenerek körleme işlemi yapıldı. Dokulara ait süspansiyonlardan sırasıyla 2 µL alınıp ölçüm RNA ölçme işlemi tamamlandı. Total RNA ekstraksiyon işleminden elde edilen dokulara ait RNA yükleri (ng değerleri) çalışmanın sonraki basamaklarında kullanılmak üzere belirli bir ng değerine sabitlendi. Bu işlem, qPCR aşamasında tutarsız sonuçların engellenmesi için önemlidir.

Komplementer DNA (cDNA) Sentezi: Total cDNA, beyin ve beyincik dokularından elde edilen RNA'dan sentezlendi. Bunun için içeriğinde 5x TransAmp Buffer ve Reverse Transcriptase bulunan SensiFAST^{TM} cDNA sentez kiti kullanılarak kit protokolüne uygun bir şekilde revers transkripsiyon işlemi gerçekleştirildi. İşlem sırasında 5x TransAmp Buffer'da bulunan Oligo(dT) ve Random Hexamer primerlerinin, mRNA zincirini uzatarak yapıyı kararlı hale getirmesi sağlandı. Daha sonra reverse transkriptaz enzimi mRNA dizisinin karşı kopyasını sentezledi ve elde edilen cDNA örnekleri RT-qPCR'da kullanılıncaya kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. ABI Veriti 96 Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA) cihazında, Çizelge 3.2'de verilen protokol ayarlanarak gerçekleştirilen revers transkripsiyon işlemi için kullanılan kit içeriğindeki bileşenler buz üzerinde ve steril bir tüp içerisinde hazırlandı. Daha sonra kısa bir vorteks ve spin uygulaması yapıldı.

Çizelge 3.2. Revers Transkripsiyon işlemi için cihaz protokolü

Sıcaklık/Derece	**Süre**	**İşlem**
25 °C	10 dk	primer bağlaması
42 °C	15 dk	revers transkripsiyon işlemi
85 °C	5 dk	enzim inaktivasyonu

RT-qPCR: Son aşamada, mRNA dizilerinden oluşturulan cDNA zincirleri kullanıldı. Housekeeping veya referans geni olarak RSP-16 seçildi. PARK2, PARK6, SNCA, LDLR

ve RSP-16 genlerinin mRNA ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için genlere özgü primerler internet-tabanlı Primer3Plus (https://www.primer3plus.com/index.html) programı ile tasarlandı ve Integrated DNA Technologies (https://www.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer) üzerinden doğrulandı. Seçilen genler ile ilgili özgün primer listesi Çizelge 3.3'de verilmiştir. Kullanılan primerler Oligomer'den temin edilmiştir. RPS-16, PARK2, PARK6, SNCA ve LDLR'nin eksprsyon seviyelerinin belirlenmesi için SensiFAST^{TM} SYBR No-ROX Kit kullanılmıştır. İşlem sırasında prosedüre uygun olarak 2 x SensiFAST SYBR No ROX Mix, mRNA MixB (Primer / F (Forward) & R (Reverse)), mRNA cDNA ve nükleaz içermeyen H_2O komponentlerinin reaksiyonu ile kontrol ve deney gruplarında bulunan beyin ve beyincik dokularının herbiri için ilgili mRNA'ların ve onlara uygun referans genine ait dizilerin Biorad CFX96 Touch real time PCR cihazı kullanılarak çoğaltılması Çizelge 3.4'de verilen protokol ayarlanarak sağlandı. İşlem sonunda cihaz aracılığıyla elde edilen veriler $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ metodu ile değerlendirildi [252]. 40 döngü üzerinden yapılan çalışmada floresan değerinin eşik değerini geçtiği (Threshold çizgisini kestiği) noktadan alınan eşik değer (Ct (threshold cycle), Cp (crossing point), Cq (quantification cycle)) hesaplamalarda kullanıldı.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan primer dizileri

Gen Adı	**Oligo Adı (Primer)**	**Primer Dizisi**
PARK2	PARK2_cpo_F	5' CCTAATAACAACCAACAG 3'
PARK2	PARK2_cpo_R	5' AAACAGTCTAAGCAAATC 3'
LDLR	LDLR_cpo_F	5' CAGGCTTGGATGTTCATT 3'
LDLR	LDLR_cpo_R	5' TACTTTCACACCAGTTCAC 3'
PARK6	PARK6_cpo_F	5' GTATGTGGATCGAGGTGG 3'
PARK6	PARK6_cpo_R	5' TTGCTGTAGTCAATCACTG 3'
SNCA	SNCA_cpo_F	5'^GGTGTTCTCTATGTAGGC 3'
SNCA	SNCA_cpo_R	5' CATTTGTTACTTGTTCTTTGG 3'
RPS16	RPS16-cpo-F	5' CTCAGATTTACGCTATCC 3'
RPS16	RPS16-cpo-R	5' AATATCTTTGATCTCTTTCTTG 3'

Çizelge 3.4. RT-qPCR için kullanılan cihaz protokolü

PCR Aşaması	İşlem	Sıcaklık/Derece	Süre	Tekrar
İlk Denatürasyon	Denatürasyon	95 °C	5 dk	1
Amplifikasyon	Denatürasyon	95 °C	5 sn	40
	Bağlanma	60 °C	30 sn (okuma)	
Final	Soğutma	40 °C	30 sn	1

3.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz ve hesaplamalar SPSS 26.0 (IBM SPSS Statistics, ABD) programı ile yapıldı. Çalışmamızda elde edilen değişkenler için öncelikle normallik testi uygulandı. Normallik testi ile parametrik ve nonparametrik değişkenler belirlendi. Bağımlı örneklem t-testi ile parametrik değişkenlerin karşılaştırması değerlendirildi. Normal dağılım gösteren değişkenlerin tanımlanmasında ortalama ve standart sapma değerleri kullanıldı. Mann-Whitney testi ile nonparametrik değişkenlerin karşılaştırması değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin tanımlanmasında medyan değerleri kullanıldı. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. ANOVA ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı Tukey HSD yöntemi ile değerlendirildi. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin çoklu karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi. Apolipoprotein B seviyeleri ile PARK2, PARK6, SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyonları başta olmak üzere çeşitli analizler sonucunda elde ettiğimiz veriler arasında ilişki olup olmadığını belirlemek için korelasyon analizi yapıldı. Kobayların vücut ağırlıklarına ilişkin veriler Tekrarlı Ölçümler ANOVA ile değerlendirildi. İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Kobayların Vücut Ağırlıklarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Deney başlangıcında rastgele gruplandırma yapıldıktan sonra her bir kobayın vücut ağırlığı tartıldı. Deney boyunca haftada bir kez ve deney sonunda hayvanlar feda edilmeden 1 gün önce, aynı saatte (11:00-13:00 arası) tartım yapıldı.

Deney başlangıcında, deney boyunca ve deney sonunda elde edilen kobayların vücut ağırlıklarına ilişkin veriler Tekrarlı Ölçümler ANOVA ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Haftalara göre vücut ağırlıklarına ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Tekrarlı ölçümler ANOVA kapsamında yapılan Mauchly'nin küresellik testi sonucunda **p=0,000** bulundu (Çizelge 4.2). Mauchly'nin küresellik testi ile istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu için ikili karşılaştırmalar ve çoklu karşılaştırmalar yapıldı. Yapılan ikili ve çoklu karşılaştırmalara ilişkin standart hata ve p değerleri Çizelge 4.3, Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'te verilmiştir. Ayrıca kobay ağırlıklarının haftalara ve gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafik Şekil 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Vücut ağırlıklarına ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri (DB: deney başlangıcı)

Zaman (Hafta)	Grup	Ortalama	Std. Sapma	n	Zaman (Hafta)	Grup	Ortalama	Std. Sapma	n
DB	CF	418,8333	21,08475	6	7	CF	599,1667	36,93463	6
	CM	596,2	94,38061	5		CM	825,8	59,39444	5
	EF	418,1667	17,37143	6		EF	535,5	36,88225	6
	EM	480,5	38,81623	6		EM	642,6667	119,18669	6
	Total	473,3043	84,95102	23		Total	643,1739	125,53618	23
1	CF	432	20,79423	6	8	CF	615,8333	37,58945	6
	CM	620,8	89,85099	5		CM	857,8	63,38533	5
	EF	449,3333	16,58513	6		EF	548,5	44,27528	6
	EM	527,8333	40,24632	6		EM	645,6667	125,94867	6
	Total	502,5652	86,48059	23		Total	658,6522	134,0565	23
2	CF	463,3333	25,07323	6	9	CF	626	31,64806	6
	CM	665,8	83,55358	5		CM	873	55,11352	5
	EF	472	17,60682	6		EF	558,5	50,94998	6
	EM	572,6667	76,6255	6		EM	649,1667	152,51678	6
	Total	538,1304	97,80235	23		Total	668,1304	141,6177	23
3	CF	489,8333	28,77093	6	10	CF	655,6667	33,48233	6
	CM	675,4	92,74858	5		CM	907,2	59,96416	5
	EF	478,3333	20,19571	6		EF	574,6667	53,69792	6
	EM	576,3333	87,28268	6		EM	654,5	171,32746	6
	Total	549,7391	98,62704	23		Total	688,913	152,47471	23
4	CF	532	27,36421	6	11	CF	671,6667	36,99009	6
	CM	737,6	81,66272	5		CM	937,6	53,59384	5
	EF	499,8333	16,84538	6		EF	574,1667	65,02128	6
	EM	588,3333	86,74253	6		EM	648,8333	198,69516	6
	Total	583	105,79612	23		Total	698,087	169,83706	23
5	CF	588	45,08658	6	12	CF	680,5	39,91366	6
	CM	798,2	91,39311	5		CM	962,6	63,99062	5
	EF	537,6667	33,51815	6		EF	587	82,09994	6
	EM	621,1667	116,23324	6		EM	646,6667	222,40653	6
	Total	629,2174	120,67799	23		Total	708,6087	183,94929	23
6	CF	577,1667	29,85576	6					
	CM	804,6	74,35254	5					
	EF	525,8333	32,43095	6					
	EM	630,6667	123,38017	6					
	Total	627,1739	124,68858	23					

Çizelge 4.2. Vücut ağırlıklarına ilişkin tekrarlı ölçümler ANOVA kapsamında Mauchly'nin küresellik testi (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.)

Mauchly'nin Küresellik Testi		
Faktör	Ölçüm Adı	P değeri
Zaman	Ağırlık	0,000

Çizelge 4.3. Vücut ağırlıklarına ilişkin haftalara göre ikili karşılaştırmalar (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiştir. *Bonferroni düzeltmesi yapıldı. DB: deney başlangıcı)

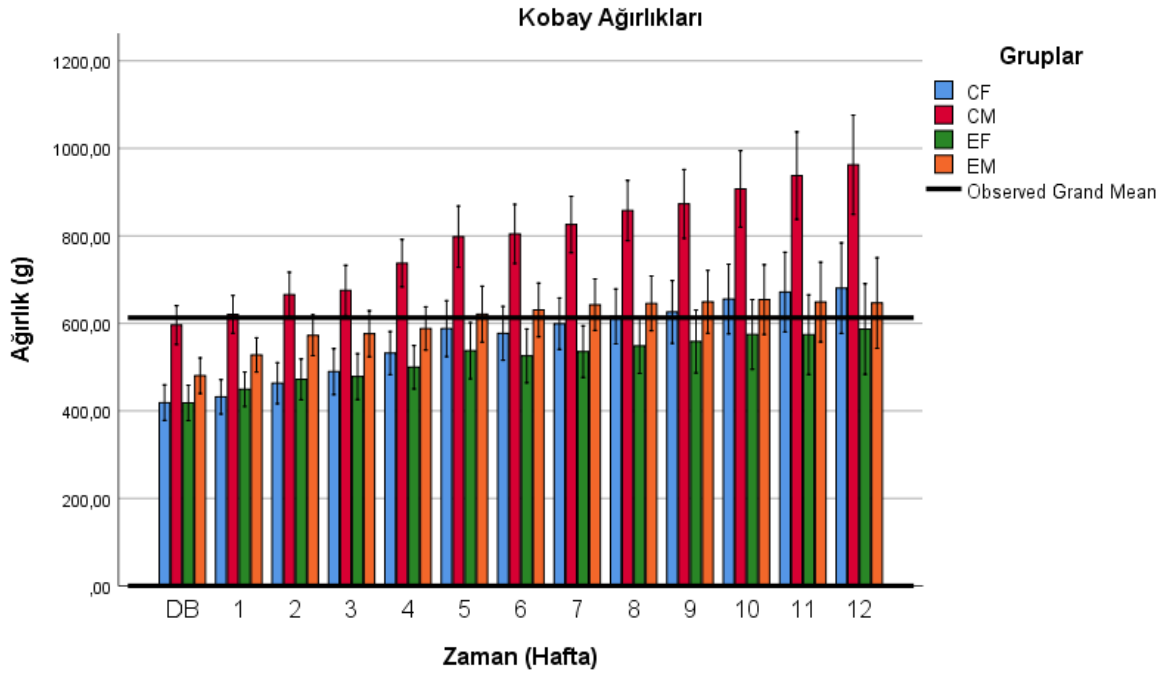
Zaman (Hafta)	Zaman (Hafta)	Std. Hata	P değeri*	Zaman (Hafta)	Zaman (Hafta)	Std. Hata	P Değeri*
DB	1	3,265	**0,000**	7	DB	14,277	**0,000**
	2	8,117	**0,000**		1	12,261	**0,000**
	3	10,398	**0,000**		2	7,891	**0,000**
	4	10,323	**0,000**		3	7,067	**0,000**
	5	13,994	**0,000**		4	5,913	**0,000**
	6	14,307	**0,000**		5	4,628	0,422
	7	14,277	**0,000**		6	2,377	**0,000**
	8	15,867	**0,000**		8	3,328	**0,009**
	9	18,36	**0,000**		9	5,022	**0,004**
	10	20,308	**0,000**		10	6,676	**0,000**
	11	23,618	**0,000**		11	10,674	**0,003**
	12	26,592	**0,000**		12	13,965	**0,008**
1	DB	3,265	**0,000**	8	DB	15,867	**0,000**
	2	6,101	**0,001**		1	13,674	**0,000**
	3	8,137	**0,001**		2	9,433	**0,000**
	4	7,966	**0,000**		3	8,091	**0,000**
	5	11,861	**0,000**		4	7,081	**0,000**
	6	12,089	**0,000**		5	4,926	**0,000**
	7	12,261	**0,000**		6	3,428	**0,000**
	8	13,674	**0,000**		7	3,328	**0,009**
	9	16,455	**0,000**		9	4,494	1,000
	10	18,345	**0,000**		10	5,663	**0,002**
	11	21,726	**0,000**		11	9,509	**0,029**
	12	24,773	**0,000**		12	12,611	**0,043**
2	DB	8,117	**0,000**	9	DB	18,36	**0,000**
	1	6,101	**0,001**		1	16,455	**0,000**
	3	3,165	0,136		2	12,015	**0,000**
	4	3,57	**0,000**		3	10,951	**0,000**
	5	7,533	**0,000**		4	10,107	**0,000**
	6	7,464	**0,000**		5	7,512	**0,003**
	7	7,891	**0,000**		6	5,348	**0,000**
	8	9,433	**0,000**		7	5,022	**0,004**
	9	12,015	**0,000**		8	4,494	1,000
	10	13,971	**0,000**		10	3,312	**0,000**
	11	17,796	**0,000**		11	7,067	**0,022**
	12	20,953	**0,000**		12	10,224	**0,042**
3	DB	10,398	**0,000**	10	DB	20,308	**0,000**
	1	8,137	**0,001**		1	18,345	**0,000**
	2	3,165	0,136		2	13,971	**0,000**
	4	2,278	**0,000**		3	12,671	**0,000**
	5	5,867	**0,000**		4	11,766	**0,000**
	6	6,257	**0,000**		5	8,76	**0,000**
	7	7,067	**0,000**		6	6,922	**0,000**
	8	8,091	**0,000**		7	6,676	**0,000**
	9	10,951	**0,000**		8	5,663	**0,002**
	10	12,671	**0,000**		9	3,312	**0,000**
	11	16,629	**0,000**		10	4,896	1,000
	12	19,657	**0,000**		11	8,056	1,000
4	DB	10,323	**0,000**	11	DB	23,618	**0,000**
	1	7,966	**0,000**		1	21,726	**0,000**
	2	3,57	**0,000**		2	17,796	**0,000**
	3	2,278	**0,000**		3	16,629	**0,000**
	5	5,365	**0,000**		4	15,652	**0,000**
	6	5,416	**0,000**		5	12,837	**0,002**
	7	5,913	**0,000**		6	10,98	**0,000**
	8	7,081	**0,000**		7	10,674	**0,003**
	9	10,107	**0,000**		8	9,509	**0,029**
	10	11,766	**0,000**		9	7,067	**0,022**
	11	15,652	**0,000**		10	4,896	1,000
	12	18,784	**0,000**		12	4,306	1,000
5	DB	13,994	**0,000**	12	DB	26,592	**0,000**
	1	11,861	**0,000**		1	24,773	**0,000**
	2	7,533	**0,000**		2	20,953	**0,000**
	3	5,867	**0,000**		3	19,657	**0,000**
	4	5,365	**0,000**		4	18,784	**0,000**
	6	3,561	1,000		5	15,624	**0,003**
	7	4,628	0,422		6	14,209	**0,001**
	8	4,926	**0,000**		7	13,965	**0,008**
	9	7,512	**0,003**		8	12,611	**0,043**
	10	8,76	**0,000**		9	10,224	**0,042**
	11	12,837	**0,002**		10	8,056	1,000
	12	15,624	**0,003**		11	4,306	1,000
6	DB	14,307	**0,000**				
	1	12,089	**0,000**				
	2	7,464	**0,000**				
	3	6,257	**0,000**				
	4	5,416	**0,000**				
	5	3,561	1,000				
	7	2,377	**0,000**				
	8	3,428	**0,000**				
	9	5,348	**0,000**				
	10	6,922	**0,000**				
	11	10,98	**0,000**				
	12	14,209	**0,001**				

Çizelge 4.4. Vücut ağırlıklarına ilişkin gruplara göre ikili karşılaştırmalar (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiştir. *Bonferroni düzeltmesi yapıldı. DB: deney başlangıcı)

Gruplar	Gruplar	Std. Hata	P Değeri*
CF	CM	42,813	**0,000**
	EF	40,821	1,000
	EM	40,821	1,000
CM	CF	42,813	**0,000**
	EF	42,813	**0,000**
	EM	42,813	**0,002**
EF	CF	40,821	1,000
	CM	42,813	**0,000**
	EM	40,821	0,284
EM	CF	40,821	1,000
	CM	42,813	**0,002**
	EF	40,821	0,284

Çizelge 4.5. Vücut ağırlıklarına ilişkin çoklu karşılaştırmalar (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiştir.)

	Gruplar	Gruplar	Std. Hata	P Değeri
Tukey HSD	CF	CM	42,81298	**0,000**
		EF	40,82058	0,686
		EM	40,82058	0,747
Tukey HSD	CM	CF	42,81298	**0,000**
		EF	42,81298	**0,000**
		EM	42,81298	**0,002**
Tukey HSD	EF	CF	40,82058	0,686
		CM	42,81298	**0,000**
		EM	40,82058	0,182
Tukey HSD	EM	CF	40,82058	0,747
		CM	42,81298	**0,002**
		EF	40,82058	0,182



Şekil 4.1. Haftalara ve gruplara göre kobay ağırlıkları (DB: deney başlangıcı; observed grand mean: gözlemlenen genel ortalama).

Çalışmamızın başlangıcında (deney başlangıcında) erkek kobayların dişi kobaylardan daha iri dolayısıyla daha ağır olması normal bir durumdur. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda deney başlangıcından deney sonuna kadar hem kontrol (CG) hem de deney (EG) gruplarının vücut ağırlıklarında artış gözlemlendi; ancak bu artışın CM kontrol grubunda daha düzenli ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Bu durumun, kobayların gruplara göre dağılımının randomize olarak yapılması nedeniyle CM kontrol grubundaki erkek kobayların başlangıç ağırlıklarının, EM deney grubundaki erkek kobaylar başta olmak üzere diğer gruplardaki kobayların başlangıç ağırlıklarına oranla daha yüksek değerde olması ile açıklanabileceği kanısındayız. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmasa da CF kontrol grubundaki dişi kobayların vücut ağırlıklarındaki artışın EF ve EM deney gruplarındaki dişi ve erkek kobayların vücut ağırlıklarına göre daha fazla olduğu dikkat çekti.

4.2. Histokimyasal Bulgular

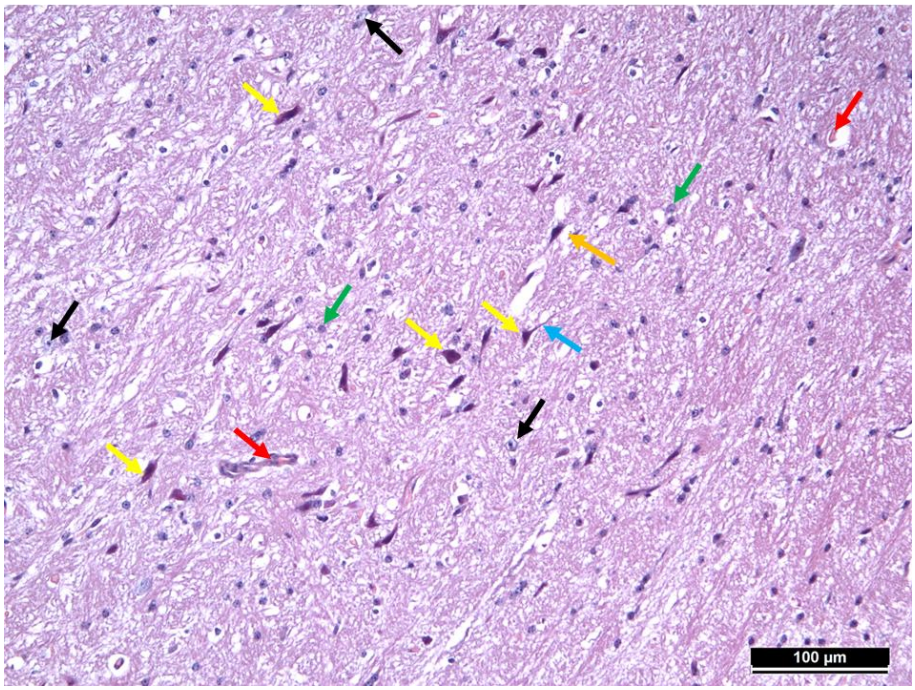
4.2.1. Hematoksilen-eozin (H&E) boyama bulguları

Kontrol grupları olan CF ve CM gruplarının H&E ile boyanan orta beyin kesitlerinde

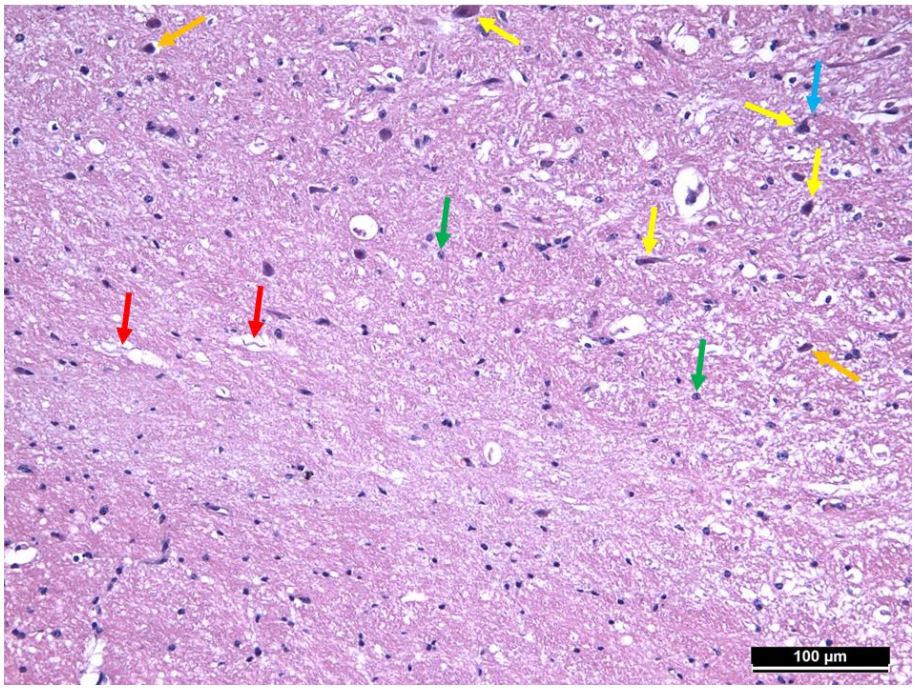
ökromatik çekirdeğe sahip sinir hücreleri, yoğun boyanmış sinir hücreleri, sinir hücre uzantıları, nöroglia hücreleri ve kan damarları incelendi. Deney gruplarından olan EF grubunun H&E ile boyanan orta beyin kesitlerine ait değerlendirmelerin kontrol grupları ile benzer olduğu belirlendi; ancak EM grubunda perinöronal vakuolizasyonun diğer gruplara göre biraz daha belirgin olması dikkat çekti. Gruplara ait orta beyin kesitlerinin H&E boyamalarını gösteren fotoğraflar Resim 4.1, Resim 4.2, Resim 4.3 ve Resim 4.4'te verilmiştir.

Kontrol grupları olan CF ve CM gruplarının H&E ile boyanan beyin korteksi kesitlerinde ökromatik çekirdeğe sahip sinir hücreleri, yoğun boyanmış piramidal sinir hücreleri, sinir hücre uzantıları, nöroglia hücreleri ve kan damarları incelendi. Deney gruplarından olan EF grubunun H&E ile boyanan beyin korteksi kesitlerine ait değerlendirmelerin kontrol grupları ile benzer olduğu belirlendi; ancak EM grubunda nükleer şişme varlığının diğer gruplara göre belirgin olması dikkat çekti. Gruplara ait beyin korteksi kesitlerinin H&E boyamalarını gösteren fotoğraflar Resim 4.5, Resim 4.6, Resim 4.7 ve Resim 4.8'de verilmiştir.

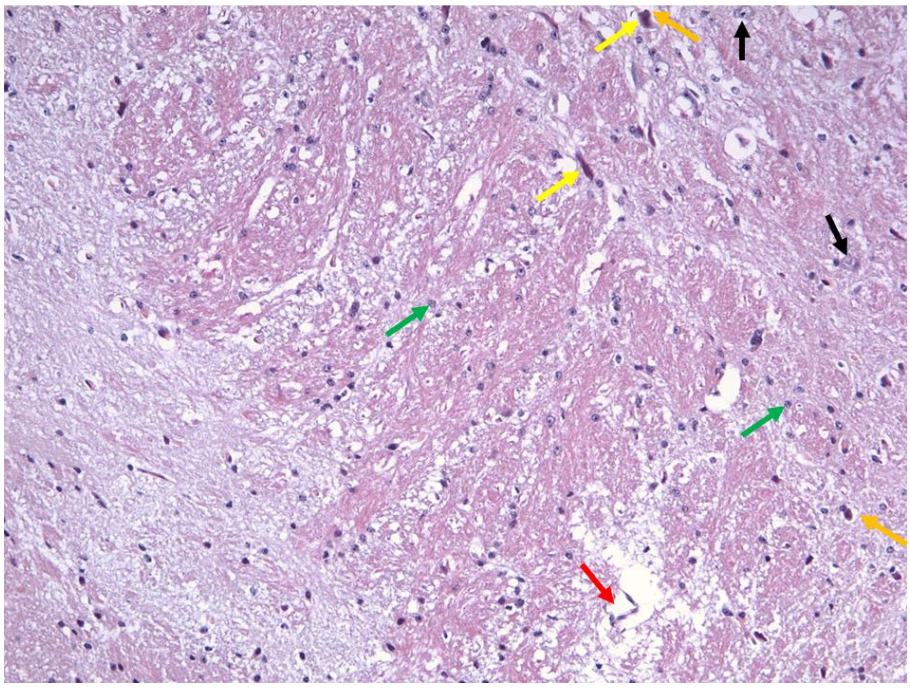
Kontrol grupları olan CF ve CM gruplarının H&E ile boyanan beyincik kesitlerinde ökromatik çekirdeğe sahip Purkinje hücreleri, yoğun boyanmış Purkinje hücreleri, Purkinje hücre uzantıları ve kan damarları incelendi. Deney grupları olan EF ve EM gruplarının H&E ile boyanan beyincik kesitlerine ait değerlendirmelerin kontrol grupları ile benzer olduğu belirlendi. Gruplara ait beyincik kesitlerinin H&E boyamalarını gösteren fotoğraflar Resim 4.9, Resim 4.10, Resim 4.11 ve Resim 4.12'de verilmiştir.



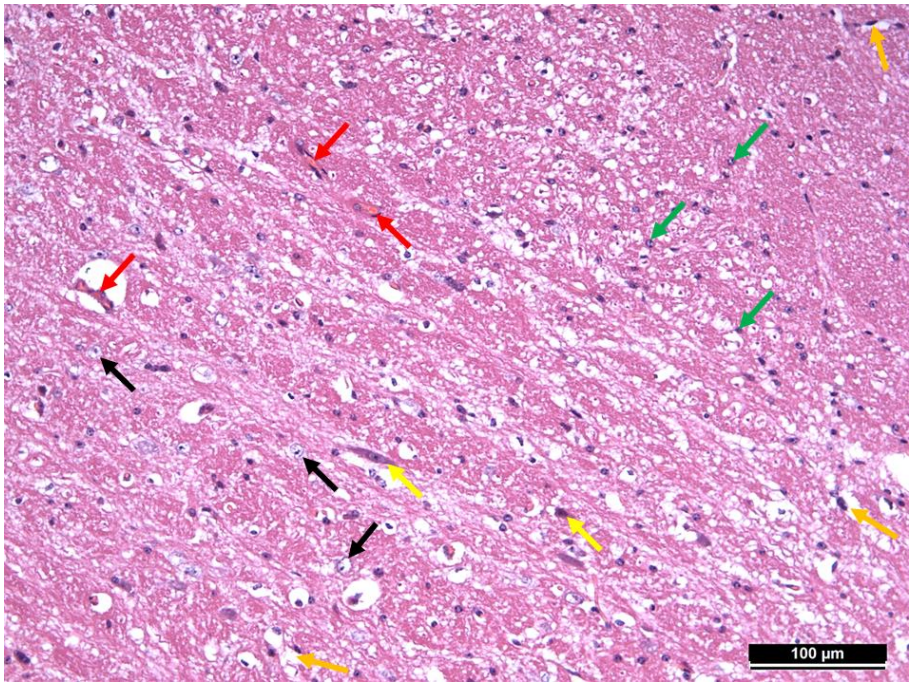
Resim 4.1. CF grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri (siyah ok), sinir hücre uzantıları (mavi ok), yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok), nörogliya hücresi (yeşil ok), perinöronal vakuolizasyon (turuncu ok) ve kan damarı (kırmızı ok) (H&E, x200)



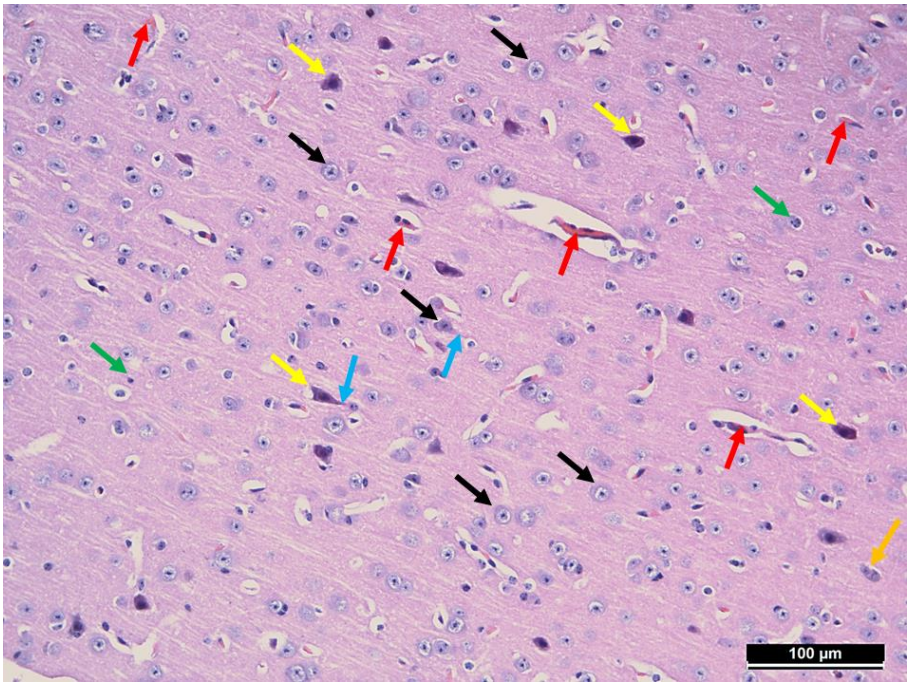
Resim 4.2. EF grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücre uzantıları (mavi ok), yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok), nörogliya hücresi (yeşil ok), perinöronal vakuolizasyon (turuncu ok) ve kan damarı (kırmızı ok) (H&E, x200)



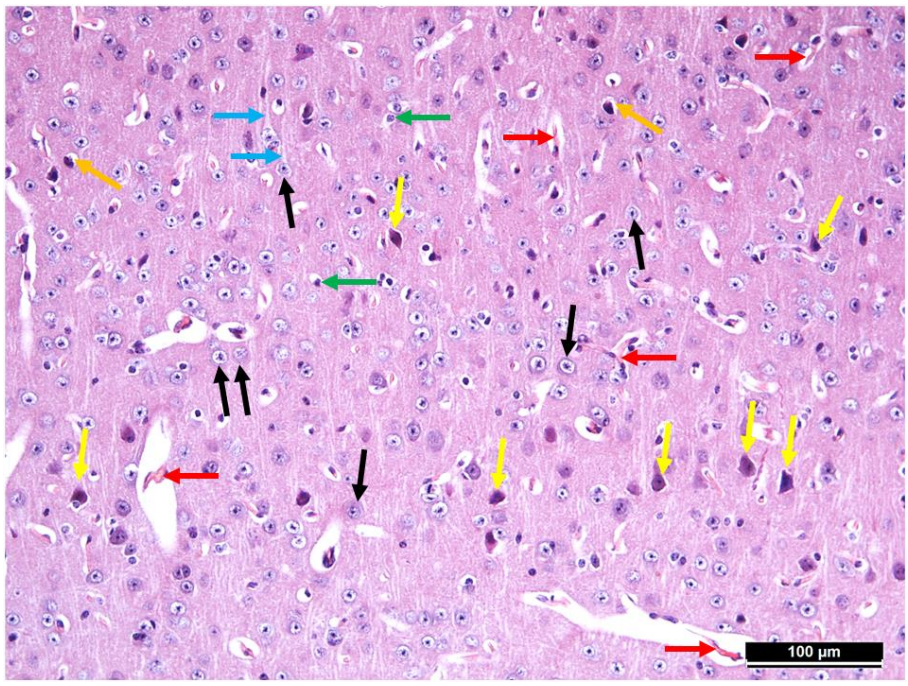
Resim 4.3. CM grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri (siyah ok), yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok), nörogliya hücresi (yeşil ok), perinöronal vakuolizasyon (turuncu ok) ve kan damarı (kırmızı ok) (H&E, x200)



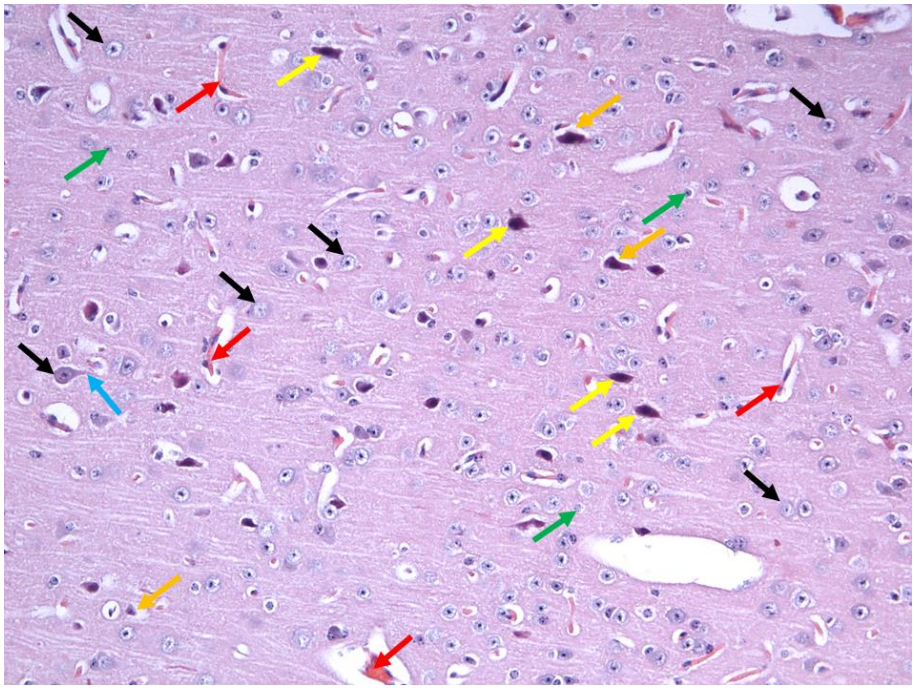
Resim 4.4. EM grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri (siyah ok), yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok), nörogliya hücresi (yeşil ok), perinöronal vakuolizasyon (turuncu ok) ve kan damarı (kırmızı ok) (H&E, x200)



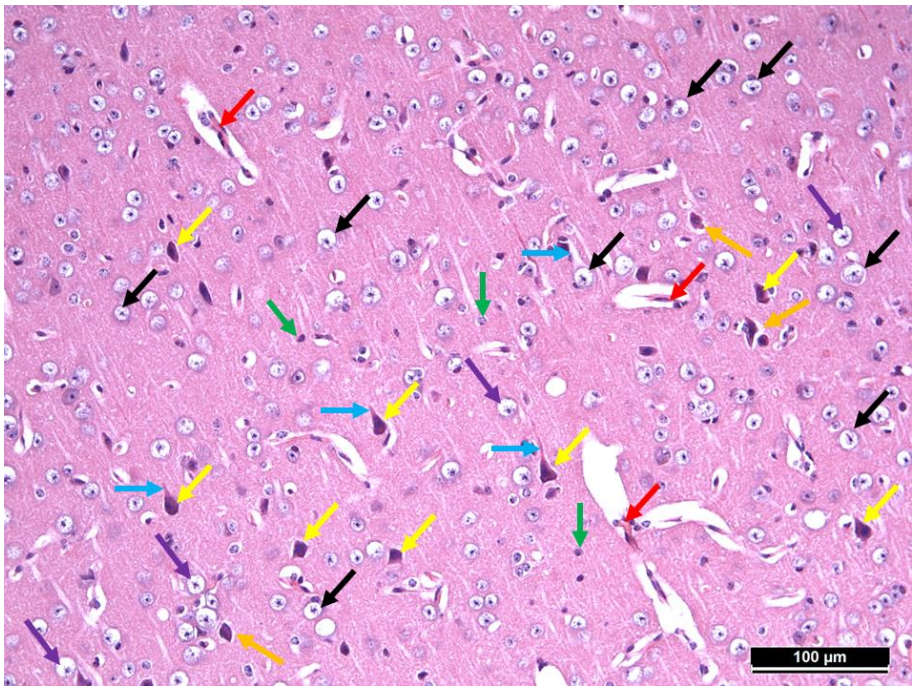
Resim 4.5. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri (siyah ok), sinir hücre uzantıları (mavi ok), yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok), nörogliya hücresi (yeşil ok), perinöronal vakuolizasyon (turuncu ok) ve kan damarı (kırmızı ok) (H&E, x200)



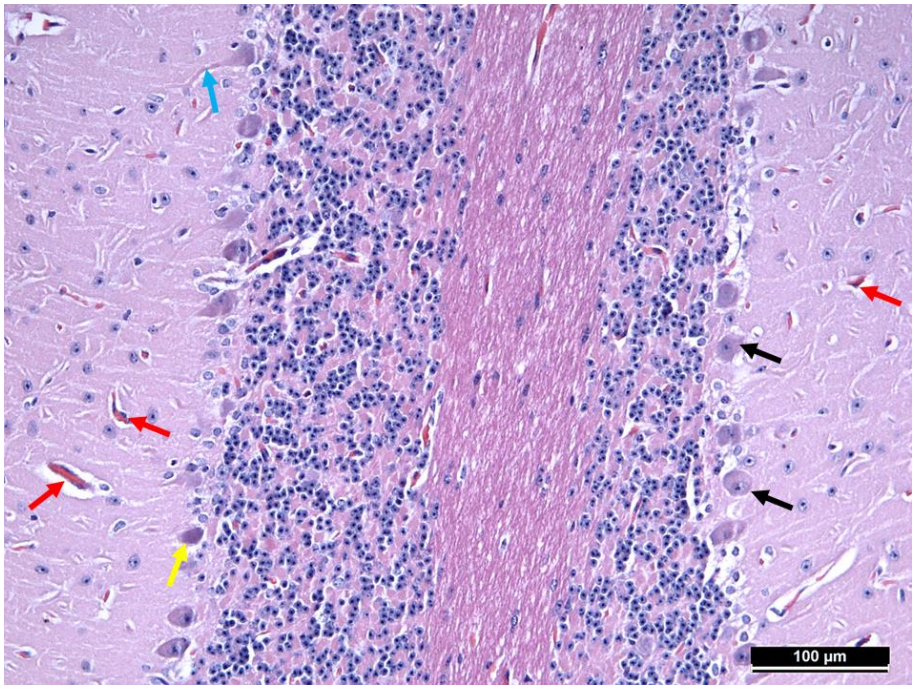
Resim 4.6. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri (siyah ok), sinir hücre uzantıları (mavi ok), yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok), nörogliya hücresi (yeşil ok), perinöronal vakuolizasyon (turuncu ok) ve kan damarı (kırmızı ok) (H&E, x200)



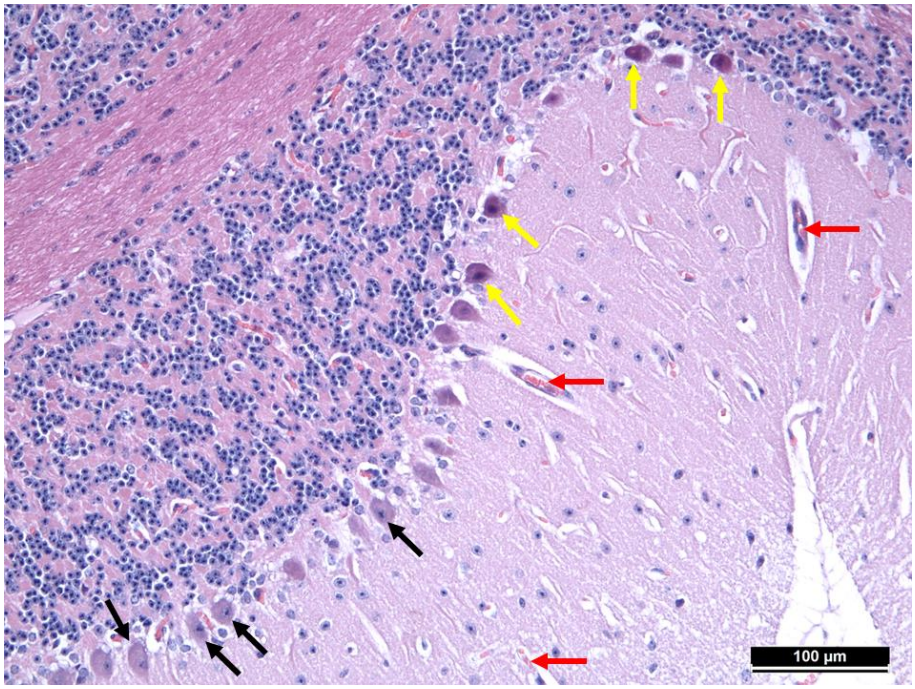
Resim 4.7. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri (siyah ok), sinir hücre uzantıları (mavi ok), yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok), nörogliya hücresi (yeşil ok), perinöronal vakuolizasyon (turuncu ok) ve kan damarı (kırmızı ok) (H&E, x200)



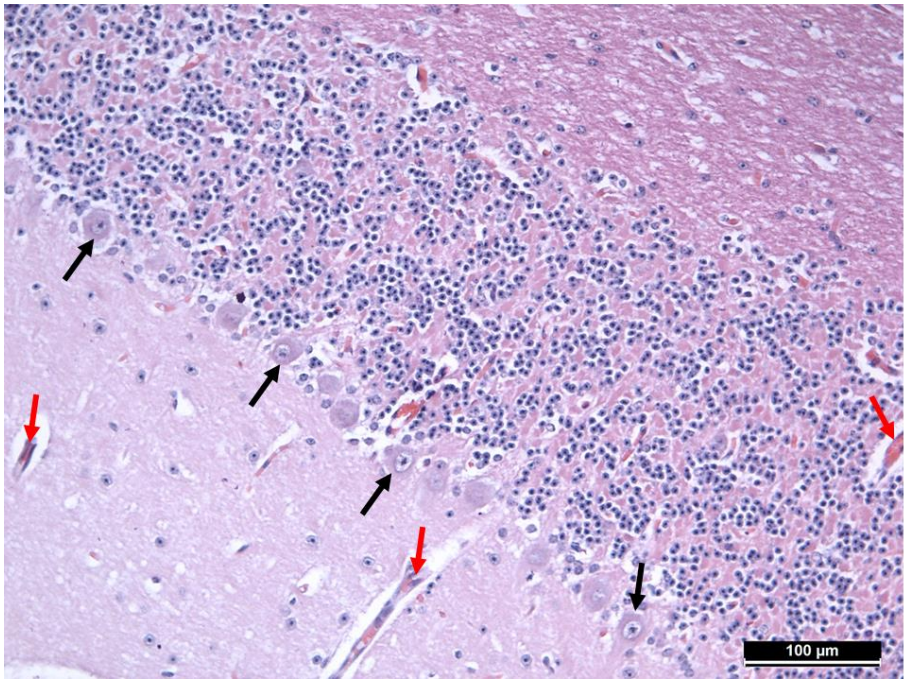
Resim 4.8. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri (siyah ok), sinir hücre uzantıları (mavi ok), yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok), nörogliya hücresi (yeşil ok), perinöronal vakuolizasyon (turuncu ok), nükleer şişme (mor ok) ve kan damarı (kırmızı ok) (H&E, x200)



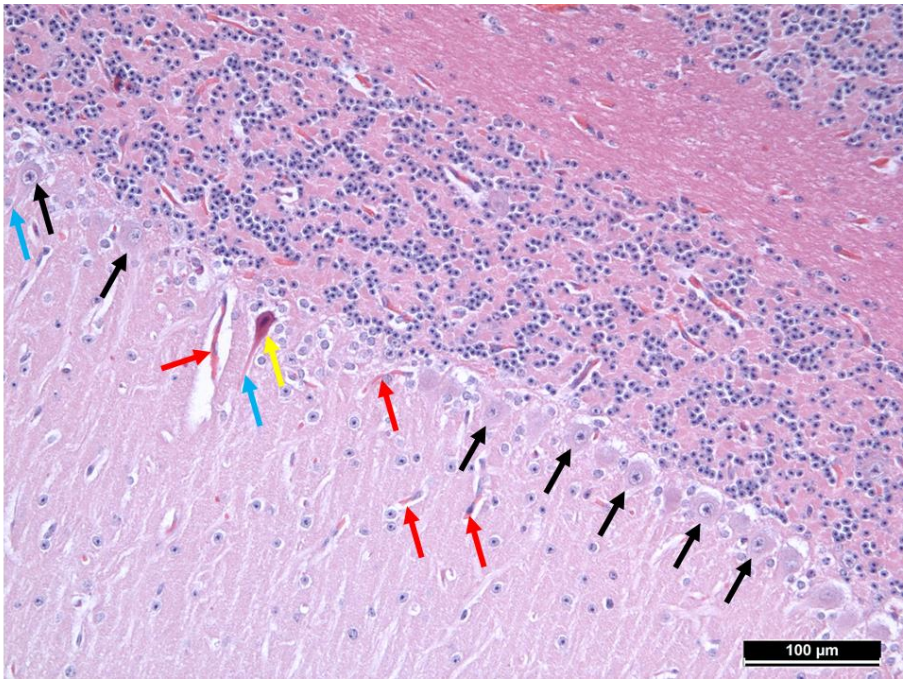
Resim 4.9. CF grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri (siyah ok), Purkinje hücre uzantısı (mavi ok), yoğun boyanmış Purkinje hücreleri (sarı ok) ve kan damarı (kırmızı ok) (H&E, x200)



Resim 4.10. EF grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri (siyah ok), yoğun boyanmış Purkinje hücreleri (sarı ok) ve kan damarı (kırmızı ok) (H&E, x200)



Resim 4.11. CM grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri (siyah ok) ve kan damarı (kırmızı ok) (H&E, x200)



Resim 4.12. EM grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri (siyah ok), Purkinje hücre uzantıları (mavi ok), yoğun boyanmış Purkinje hücreleri (sarı ok) ve kan damarı (kırmızı ok) (H&E, x200)

4.2.2. Nötral red boyama bulguları

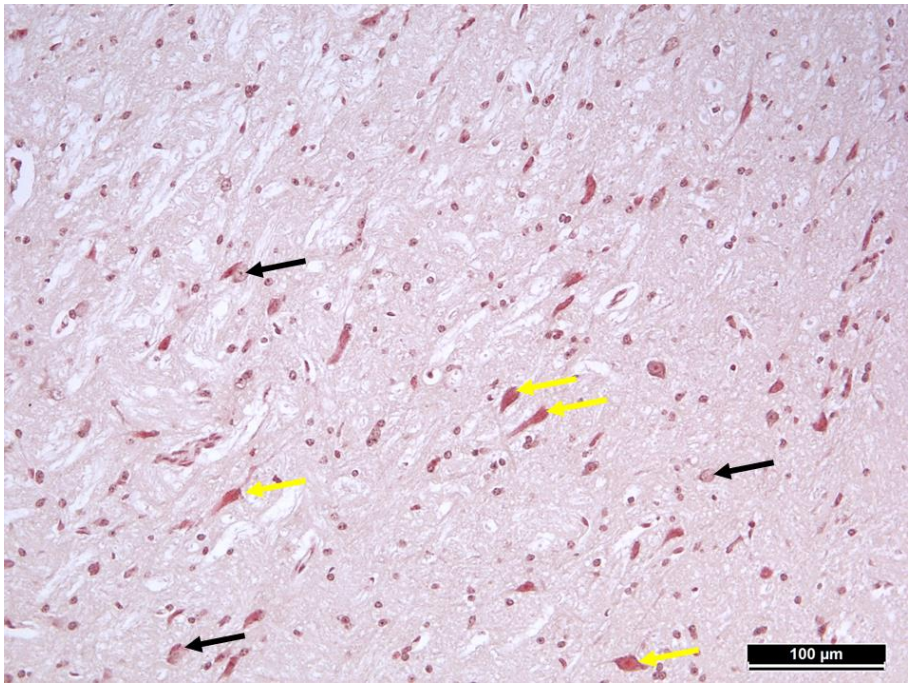
Kontrol grupları olan CF ve CM gruplarının nötral red ile boyanan orta beyin kesitlerinde

ökromatik çekirdeğe sahip sinir hücreleri ve yoğun boyanmış sinir hücreleri incelendi. Deney grupları olan nötral red ile boyanan orta beyin kesitlerine ait değerlendirmelerin kontrol grupları ile benzer olduğu belirlendi. Gruplara ait orta beyin kesitlerinin nötral red boyamalarını gösteren fotoğraflar Resim 4.13, Resim 4.14, Resim 4.15 ve Resim 4.16'da verilmiştir.

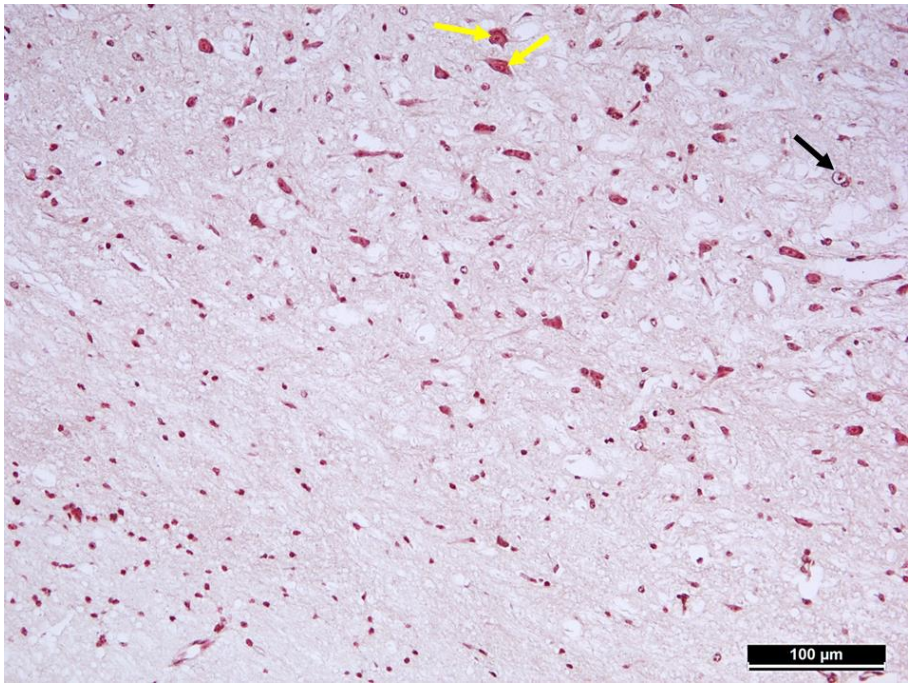
Kontrol grupları olan CF ve CM gruplarının nötral red ile boyanan beyin korteksi kesitlerinde ökromatik çekirdeğe sahip sinir hücreleri ve yoğun boyanmış piramidal sinir hücreleri incelendi. Deney grupları olan EF ve EM gruplarının nötral red ile boyanan beyin korteksi kesitlerine ait değerlendirmelerin kontrol grupları ile benzer olduğu belirlendi. Gruplara ait beyin korteksi kesitlerinin nötral red boyamalarını gösteren fotoğraflar Resim 4.17, Resim 4.18, Resim 4.19 ve Resim 4.20'de verilmiştir.

Kontrol grupları olan CF ve CM gruplarının nötral red ile boyanan beyincik kesitlerinde ökromatik çekirdeğe sahip Purkinje hücreleri ve yoğun boyanmış Purkinje hücreleri incelendi. Deney grupları olan EF ve EM gruplarının nötral red ile boyanan beyincik kesitlerine ait değerlendirmelerin kontrol grupları ile benzer olduğu belirlendi. Gruplara ait beyincik kesitlerinin nötral red boyamalarını gösteren fotoğraflar Resim 4.21, Resim 4.22, Resim 4.23 ve Resim 4.24'te verilmiştir.

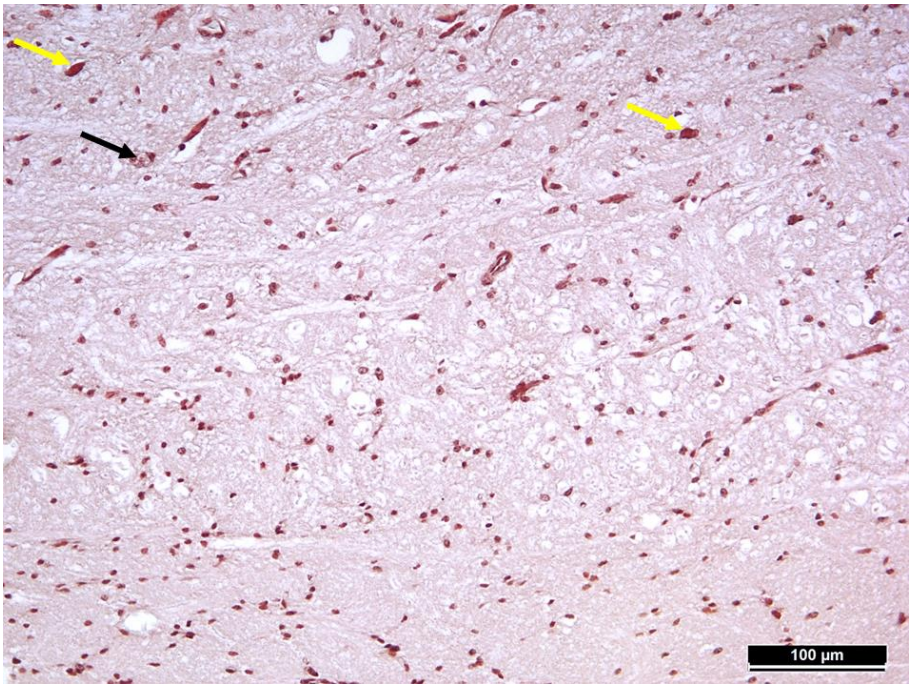
Hem ökromatik çekirdekli olan nöronları hem de piknotik çekirdekli olan yoğun boyanmış nöronları daha iyi tespit edebilmek için uyguladığımız nötral red boyaması sonucunda elde ettiğimiz bulgular, H&E boyaması sonucunda elde ettiğimiz bulguları destekledi.



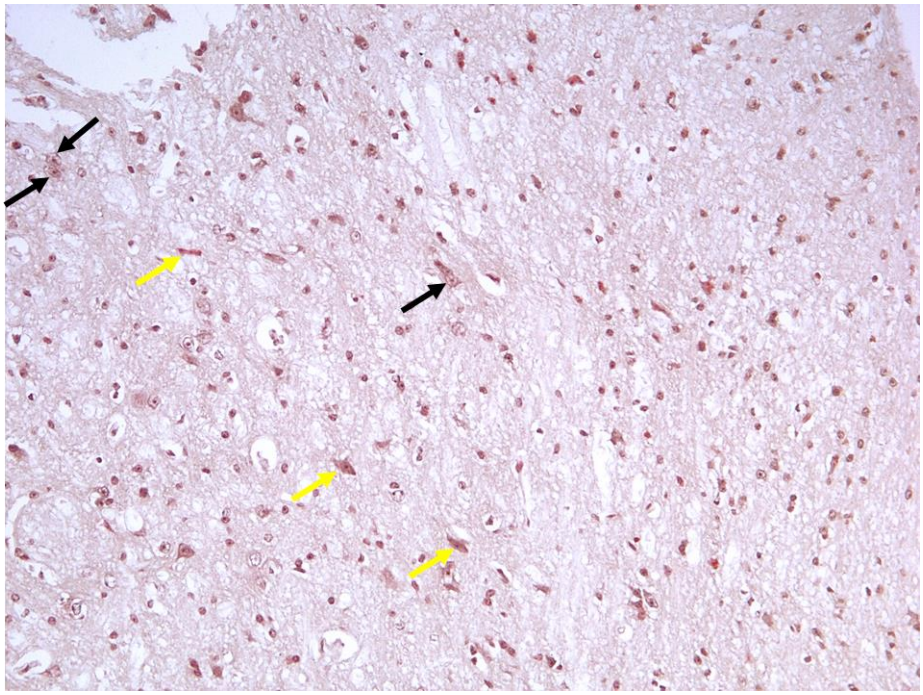
Resim 4.13. CF grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri (siyah ok) ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok) (Nötral red, x200)



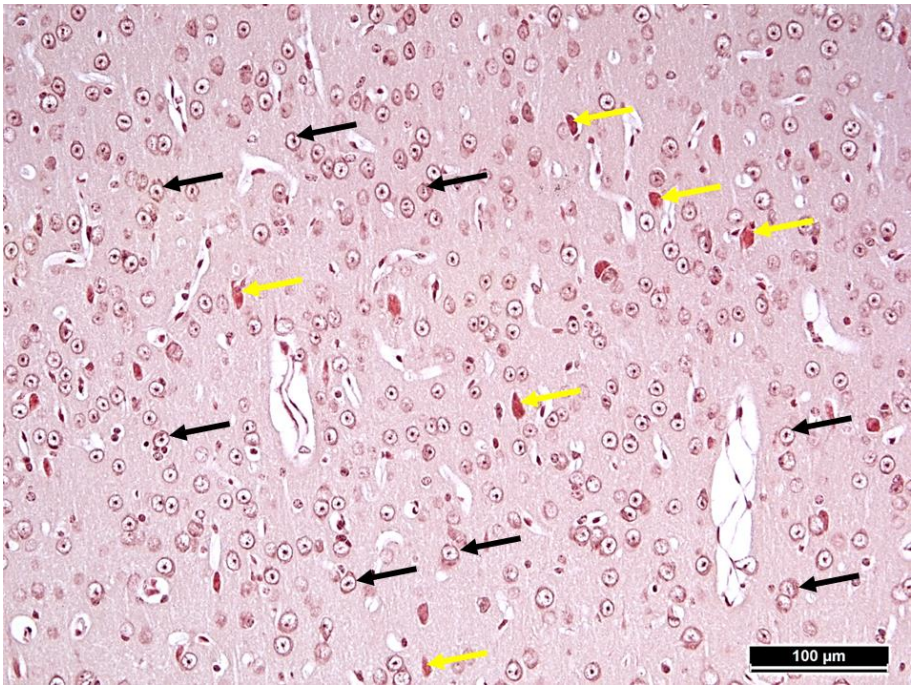
Resim 4.14. EF grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri (siyah ok) ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok) (Nötral red, x200)



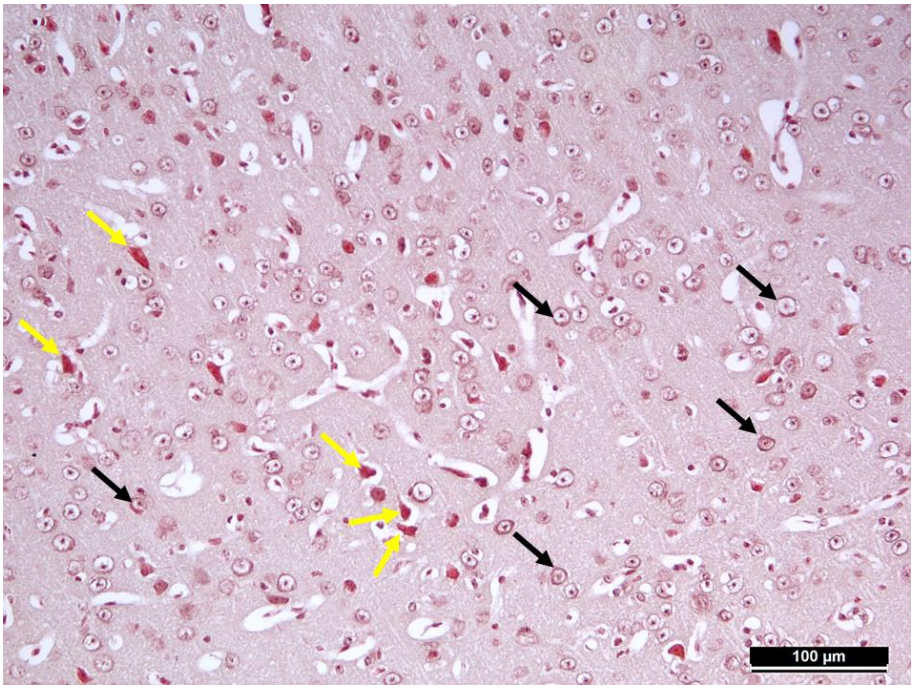
Resim 4.15. CM grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri (siyah ok) ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok) (Nötral red, x200)



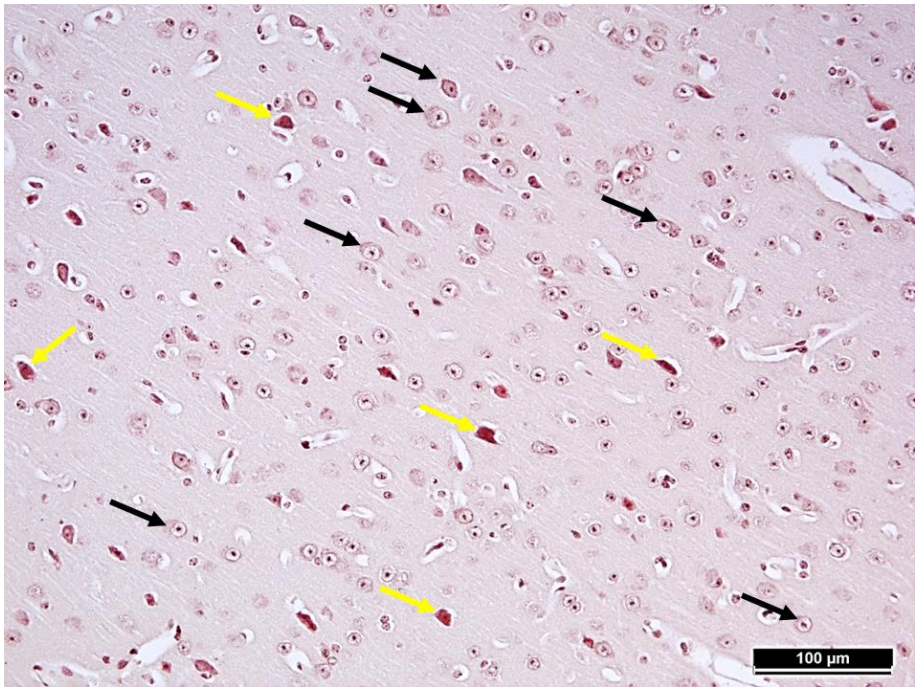
Resim 4.16. EM grubuna ait orta beyin kesitinde sinir hücreleri (siyah ok) ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok) (Nötral red, x200)



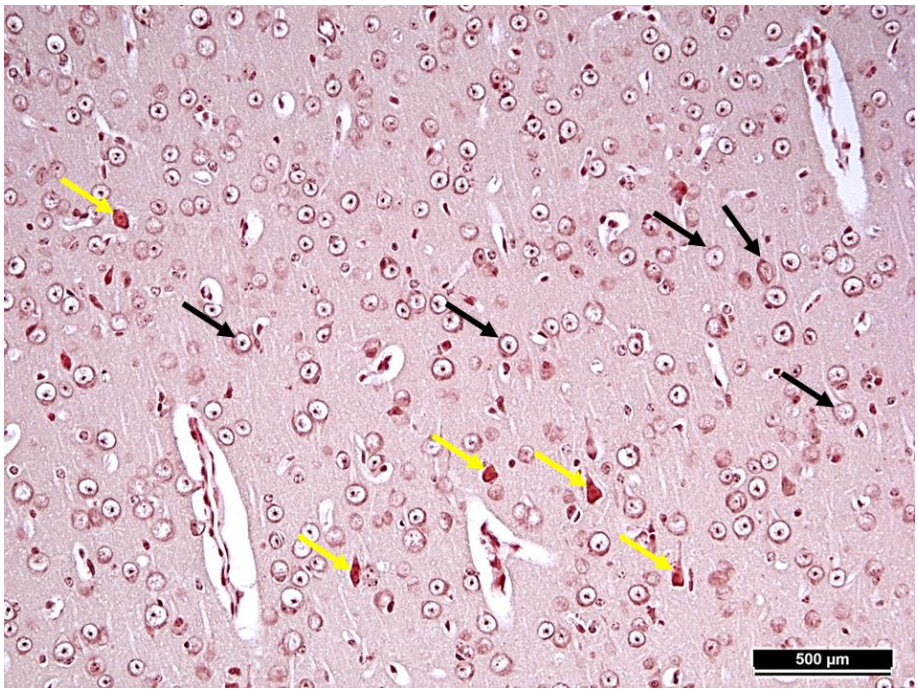
Resim 4.17. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri (siyah ok) ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok) (Nötral red, x200)



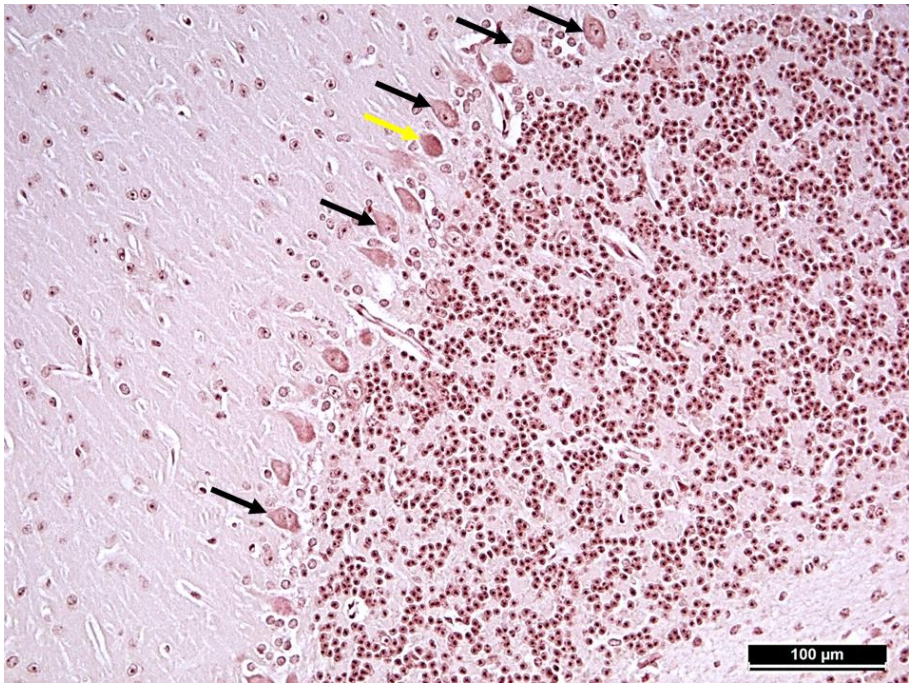
Resim 4.18. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri (siyah ok) ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok) (Nötral red, x200)



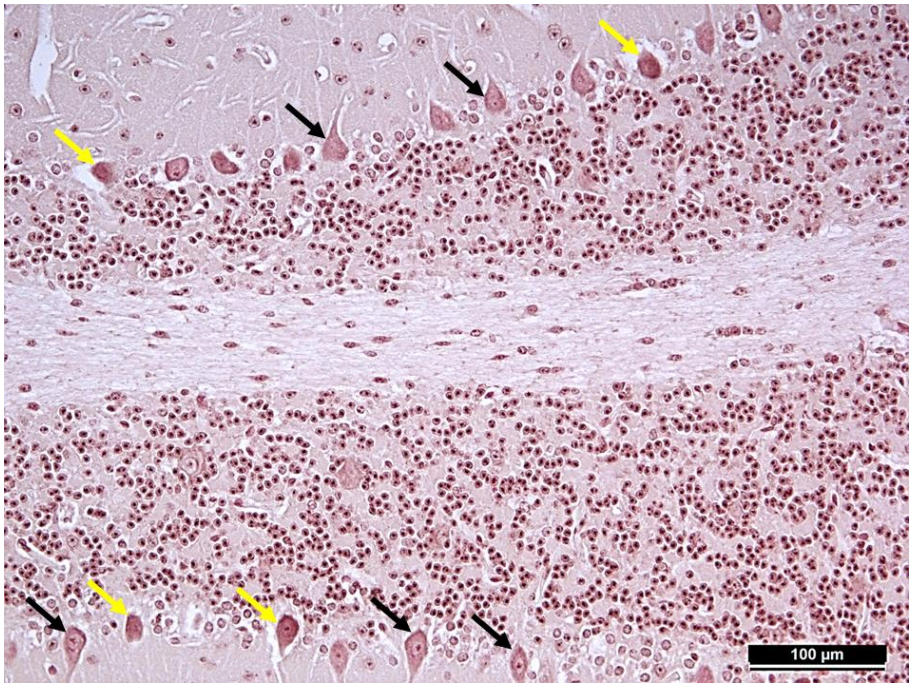
Resim 4.19. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri (siyah ok) ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok) (Nötral red, x200)



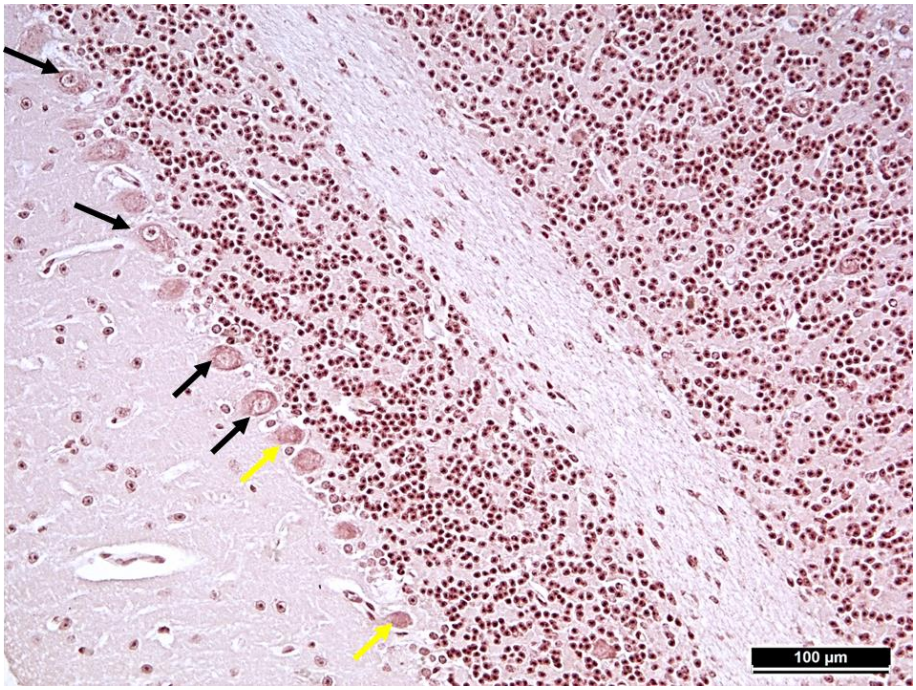
Resim 4.20. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde sinir hücreleri (siyah ok) ve yoğun boyanmış sinir hücreleri (sarı ok) (Nötral red, x200)



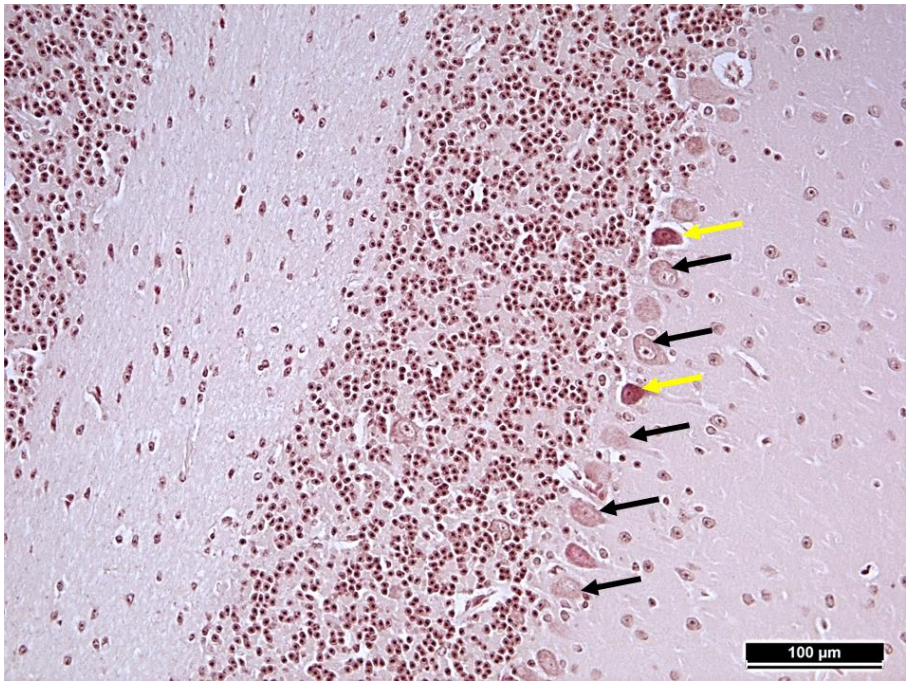
Resim 4.21. CF grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri (siyah ok) ve yoğun boyanmış Purkinje hücreleri (sarı ok) (Nötral red, x200)



Resim 4.22. EF grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri (siyah ok) ve yoğun boyanmış Purkinje hücreleri (sarı ok) (Nötral red, x200)



Resim 4.23. CM grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri (siyah ok) ve yoğun boyanmış Purkinje hücreleri (sarı ok) (Nötral red, x200)



Resim 4.24. EM grubuna ait beyincik kesitinde Purkinje hücreleri (siyah ok) ve yoğun boyanmış Purkinje hücreleri (sarı ok) (Nötral red, x200)

4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.3.1. PARK2 (PARKIN) immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

PARK2 (PARKIN) ile immünohistokimyasal olarak işaretlenen her bir beyin (orta beyin ve beyin korteksi) ve beyincik kesitinden 400X büyütmede rastgele 6 tane alan seçildi. İmmünpozitif alanların yoğunluğu, ImageJ programı (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, Maryland, ABD) kullanılarak yüzde olarak belirlendi. Değerlendirmelerin sonunda PARK2 (PARKIN) immün işaretlemesi için istatistiksel veri oluşturuldu. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7'de verilirken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin medyan değerleri Çizelge 4.8'de verilmiştir. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için bağımlı örneklem t-testi kullanılırken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için Mann-Whitney testi kullanıldı (Çizelge 4.9). Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için ANOVA kullanıldı (Çizelge 4.10). ANOVA ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı Tukey HSD yöntemi ile değerlendirildi. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin çoklu karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı (Çizelge 4.10). Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi. İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN) immün işaretlemelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.2a, Şekil 4.4a ve Şekil 4.6a'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde PARK2 (PARKIN) immün işaretlemelerine ait ortalama değerler

PARK2 (PARKIN) (Ortalama değer)						
Orta beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,958	0,974	1,083	1,007	0,965	1,045

Çizelge 4.7. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde PARK2 (PARKIN) immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri

PARK2 (PARKIN) (Standart sapma değeri)						
Orta beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,265	0,472	0,356	0,425	0,352	0,376

Çizelge 4.8. Deney gruplarına göre beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK2 (PARKIN) immün işaretlemelerine ait medyan değerleri

PARK2 (PARKIN) (Medyan değeri)						
Beyin korteksi	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,380	0,405	0,204	0,363	0,390	0,287
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,567	0,617	0,549	0,583	0,582	0,581

Çizelge 4.9. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK2 (PARKIN) immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) α: Bağımlı örneklem t-testi, β: Mann-Whitney testi

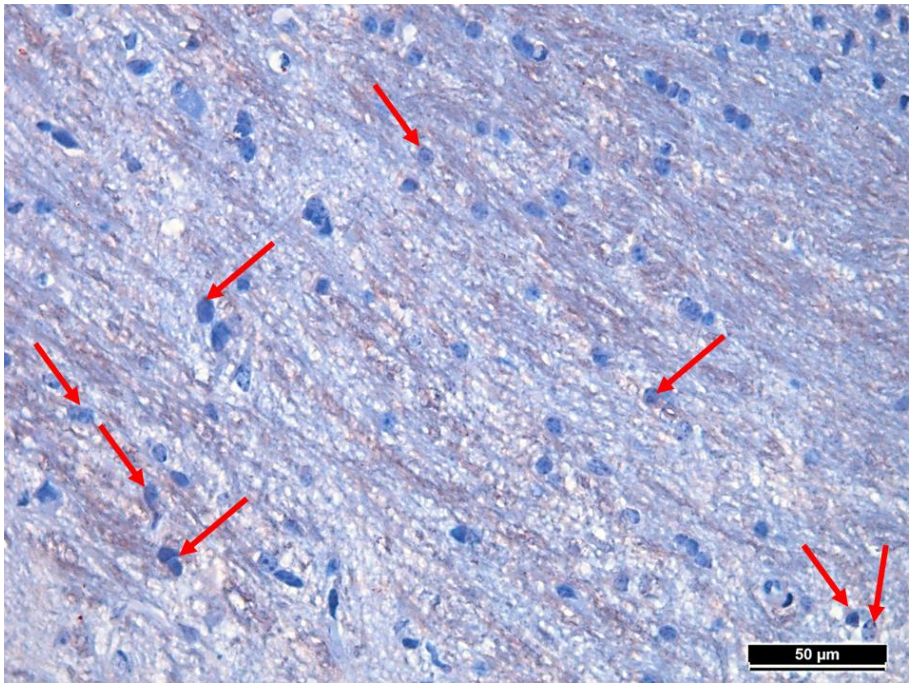
	PARK2 (PARKIN) (P değeri)		
	Orta beyin	Beyin korteksi	Beyincik
CF / CM	$0,944^{\alpha}$	$0,931^{\beta}$	$0,931^{\beta}$
CF / EF	$0,506^{\alpha}$	$0,180^{\beta}$	$0,937^{\beta}$
CF / EM	$0,817^{\alpha}$	$0,818^{\beta}$	$0,818^{\beta}$
CM / EF	$0,673^{\alpha}$	$0,429^{\beta}$	$0,931^{\beta}$
CM / EM	$0,908^{\alpha}$	$0,931^{\beta}$	$0,931^{\beta}$
EF / EM	$0,743^{\alpha}$	$0,310^{\beta}$	$1,000^{\beta}$
CG / EG	$0,608^{\alpha}$	$0,379^{\beta}$	$0,976^{\beta}$

Çizelge 4.10. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK2 (PARKIN) immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) γ: ANOVA, δ: Kruskal-Wallis testi

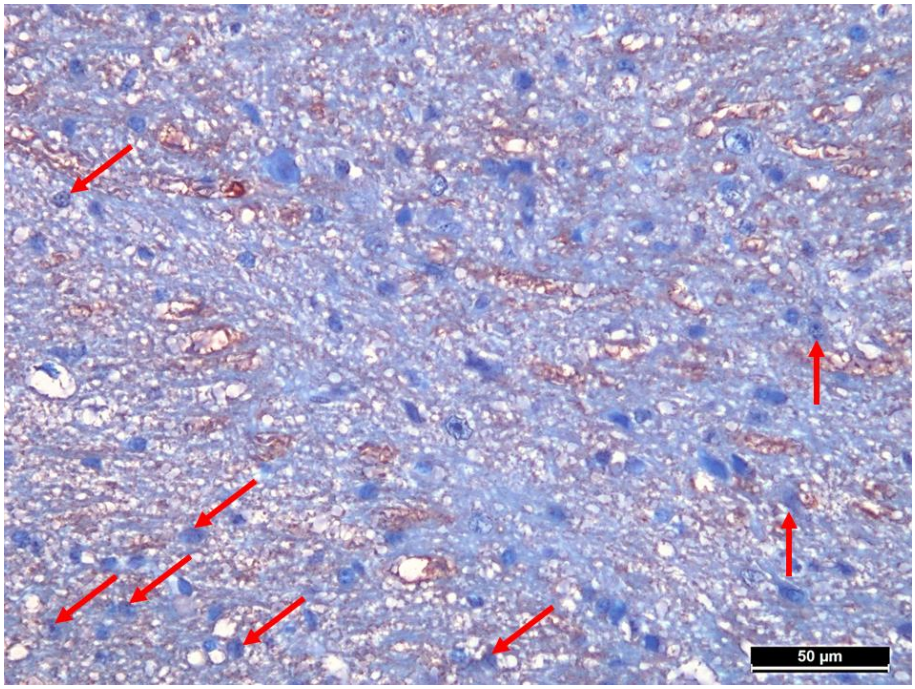
	PARK2 (PARKIN) (P değeri)	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Orta beyin	0,945$^{\gamma}$	-
Beyin korteksi	0,515$^{\delta}$	-
Beyincik	0,992$^{\delta}$	-

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN) immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.9). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin (p=0,945), beyin korteksi (p=0,515) ve beyincik (p=0,992) kesitlerindeki PARK2 (PARKIN) immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.10). Bu sonuçlar doğrultusunda orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN) immün işaretlemesi açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10).

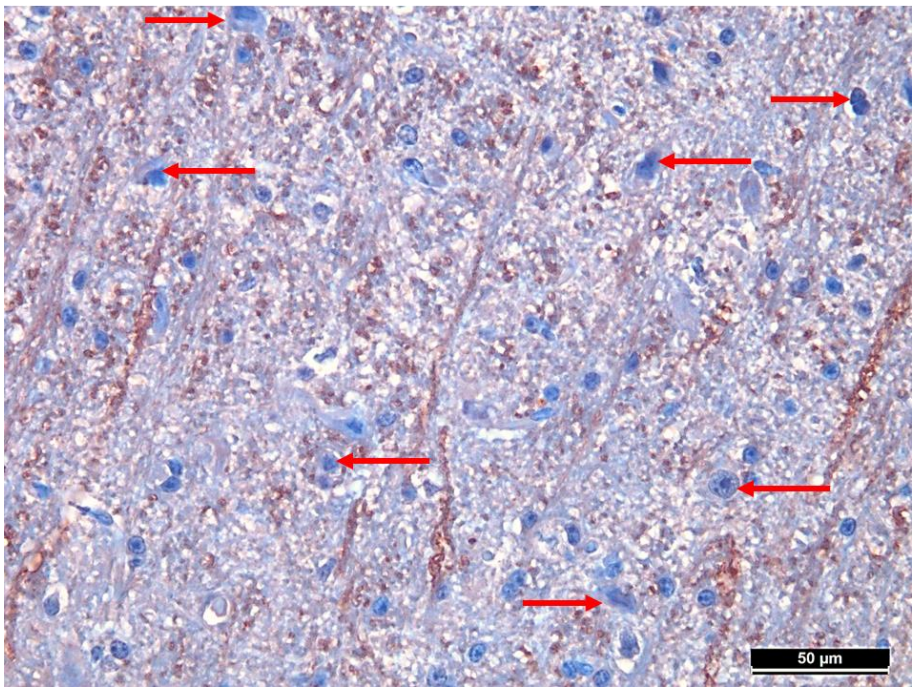
Gruplara ait orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN) immün işaretlemelerini gösteren fotoğraflar Resim 4.25, Resim 4.26, Resim 4.27, Resim 4.28, Resim 4.29, Resim 4.30, Resim 4.31, Resim 4.32, Resim 4.33, Resim 4.34, Resim 4.35 ve Resim 4.36'da verilmiştir.



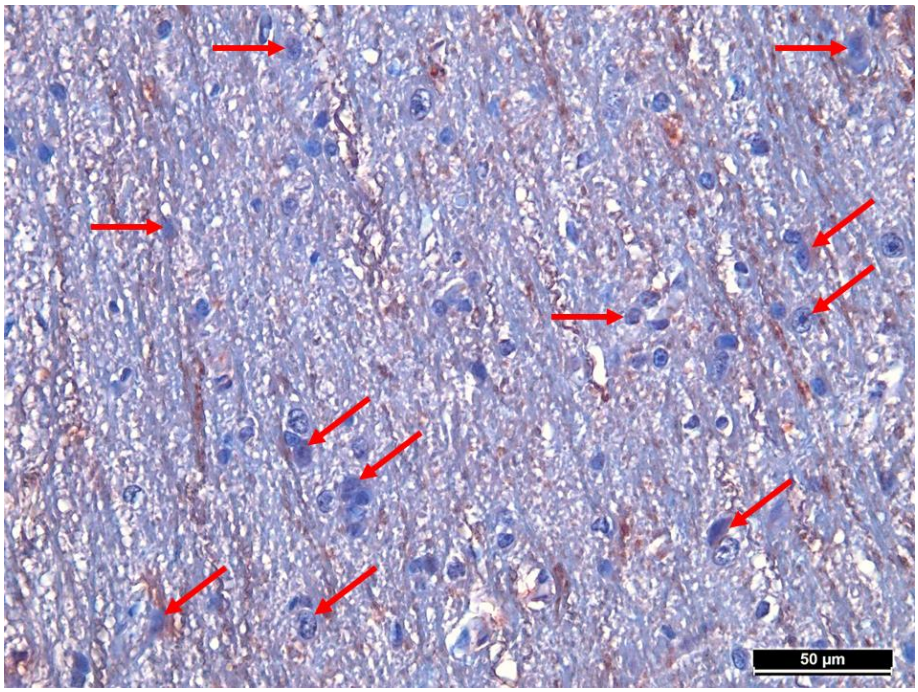
Resim 4.25. CF grubuna ait orta beyin kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



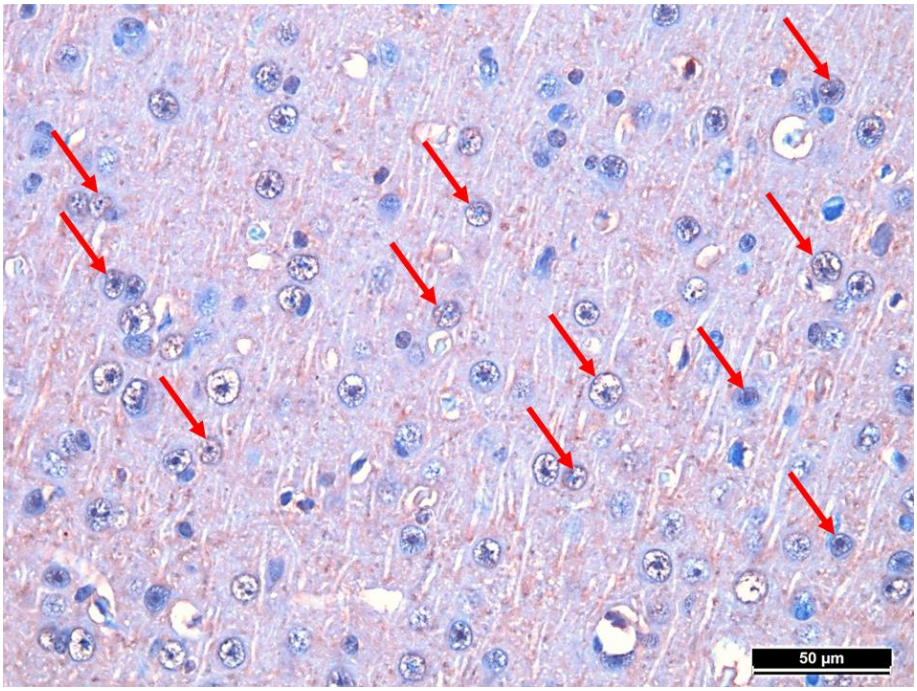
Resim 4.26. EF grubuna ait orta beyin kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



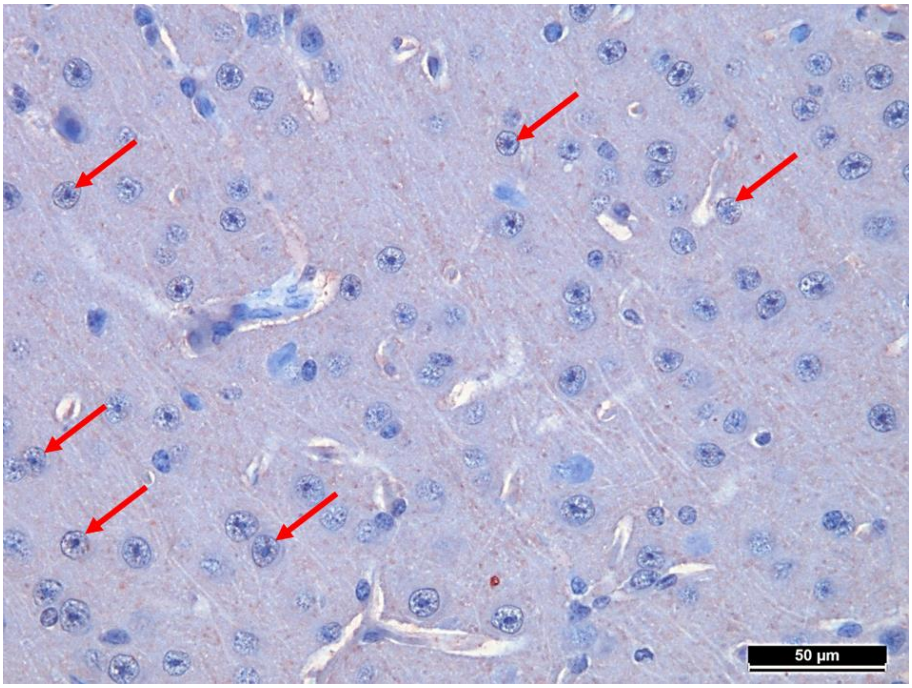
Resim 4.27. CM grubuna ait orta beyin kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



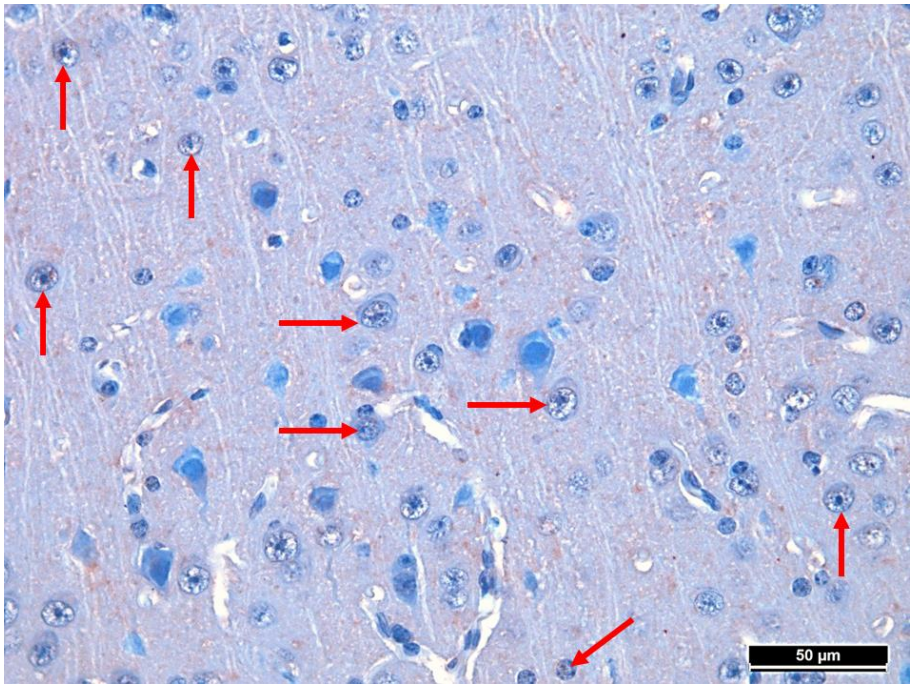
Resim 4.28. EM grubuna ait orta beyin kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



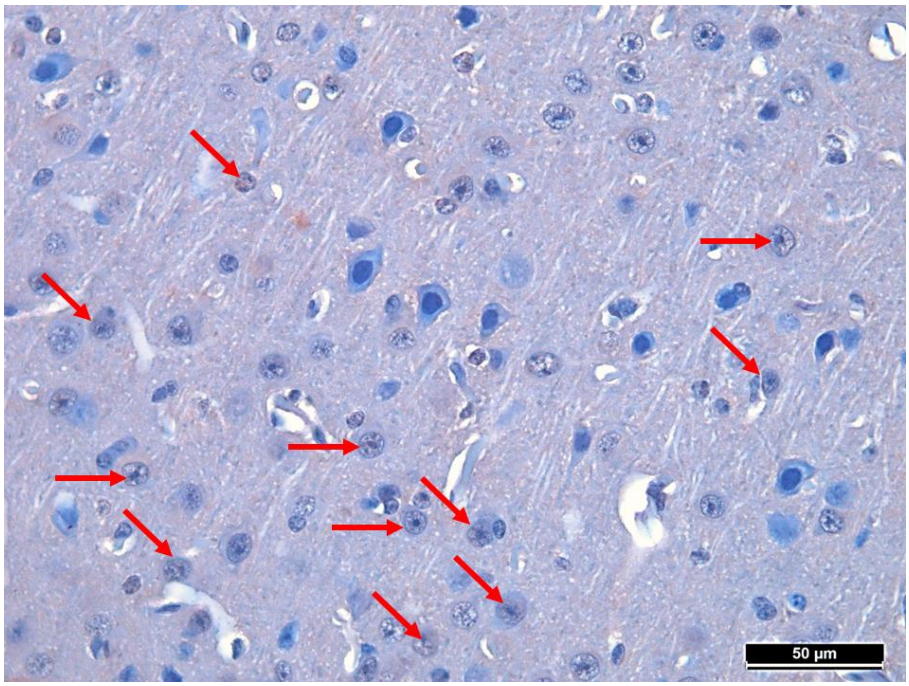
Resim 4.29. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



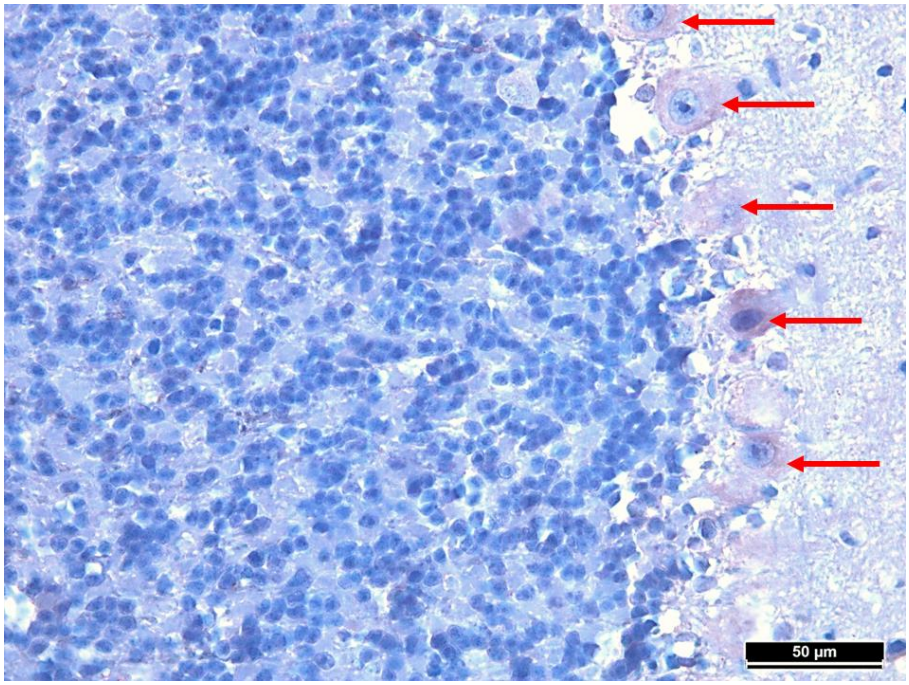
Resim 4.30. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



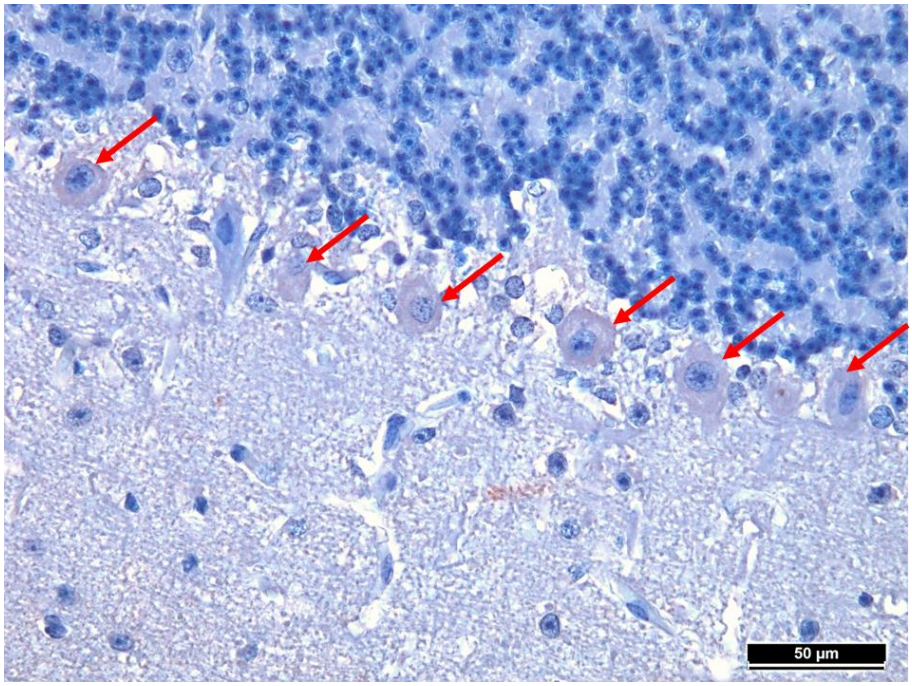
Resim 4.31. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



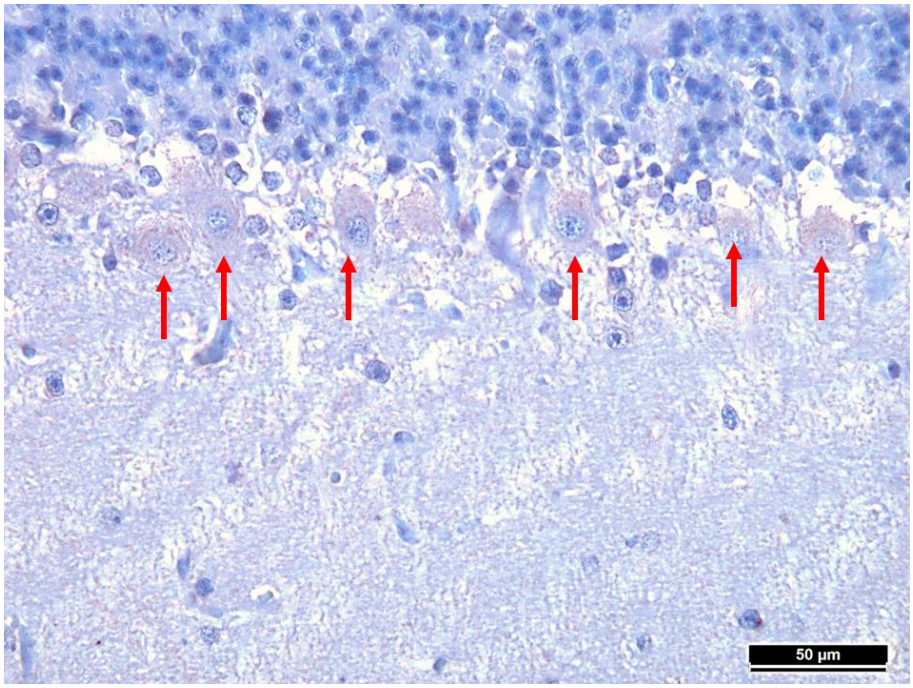
Resim 4.32. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



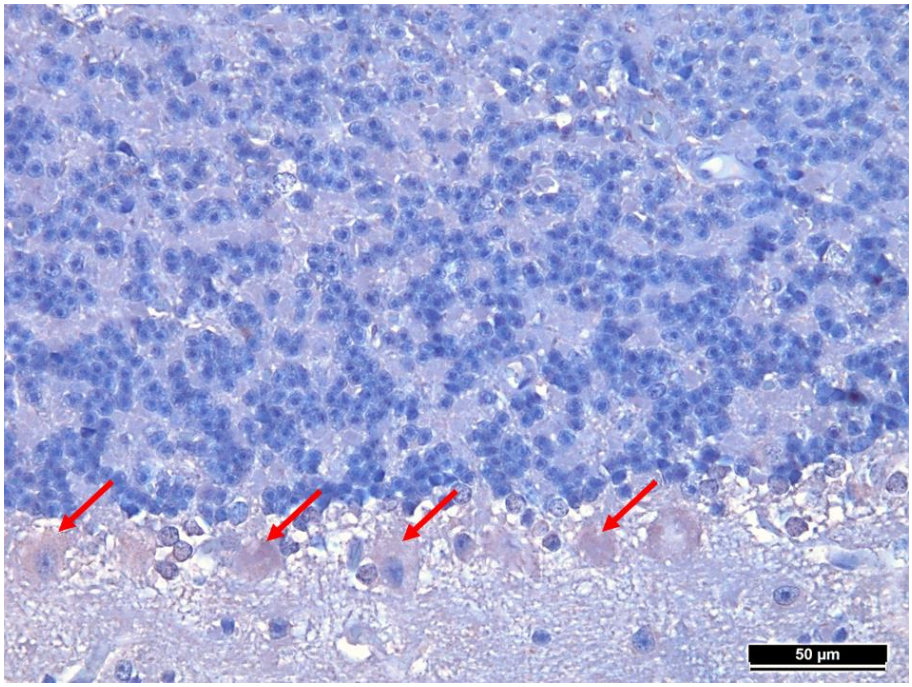
Resim 4.33. CF grubuna ait beyincik kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.34. EF grubuna ait beyincik kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.35. CM grubuna ait beyincik kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.36. EM grubuna ait beyincik kesitinde PARK2 (PARKIN) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)

4.3.2. PARK6 (PINK1) immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

PARK6 (PINK1) ile immünohistokimyasal olarak işaretlenen her bir beyin (orta beyin ve beyin korteksi) ve beyincik kesitinden 400X büyütmede rastgele 6 tane alan seçildi. İmmünpozitif alanların yoğunluğu, ImageJ programı (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, Maryland, ABD) kullanılarak yüzde olarak belirlendi. Değerlendirmelerin sonunda PARK6 (PINK1) immün işaretlemesi için istatistiksel veri oluşturuldu. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12'de verilmiştir. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için bağımlı örneklem t-testi kullanıldı (Çizelge 4.13). Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için tek ANOVA kullanıldı (Çizelge 4.14). ANOVA ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı Tukey HSD yöntemi ile değerlendirildi (Çizelge 4.14). İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki PARK6 (PINK1) immün işaretlemelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.2b, Şekil 4.4b ve Şekil 4.6b'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Deney gruplarına göre orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK6 (PINK1) immün işaretlemelerine ait ortalama değerler

PARK6 (PINK1) (Ortalama değer)						
Orta beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,596	0,665	0,532	1,061	0,627	0,796
Beyin korteksi	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,806	0,598	0,420	0,818	0,712	0,619
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,581	0,615	0,728	0,650	0,597	0,689

Çizelge 4.12. Deney gruplarına göre orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK6 (PINK1) immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri

PARK6 (PINK1) (Standart sapma değeri)						
Orta beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,295	0,231	0,301	0,343	0,257	0,414
Beyin korteksi	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,271	0,155	0,252	0,214	0,241	0,305
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,064	0,280	0,183	0,268	0,183	0,222

Çizelge 4.13. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK6 (PINK1) immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) α: Bağımlı örneklem t-testi

	PARK6 (PINK1) (P değeri)		
	Orta beyin	Beyin korteksi	Beyincik
CF / CM	0,683$^{\alpha}$	0,165$^{\alpha}$	0,806$^{\alpha}$
CF / EF	0,716$^{\alpha}$	**0,029$^{\alpha}$**	0,112$^{\alpha}$
CF / EM	**0,031$^{\alpha}$**	0,934$^{\alpha}$	0,567$^{\alpha}$
CM / EF	0,441$^{\alpha}$	0,205$^{\alpha}$	0,439$^{\alpha}$
CM / EM	0,056$^{\alpha}$	0,089$^{\alpha}$	0,836$^{\alpha}$
EF / EM	**0,018$^{\alpha}$**	**0,015$^{\alpha}$**	0,568$^{\alpha}$
CG / EG	0,259$^{\alpha}$	0,432$^{\alpha}$	0,292$^{\alpha}$

Çizelge 4.14. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde PARK6 (PINK1) immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) γ: ANOVA

	PARK6 (PINK1) (P değeri)	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Orta beyin	**0,027$^{\gamma}$**	EF / EM (Tukey HSD, **p=0,029**)
Beyin korteksi	**0,023$^{\gamma}$**	CF / EF (Tukey HSD, **p=0,042**) EF / EM (Tukey HSD, **p=0,035**)
Beyincik	0,675$^{\gamma}$	-

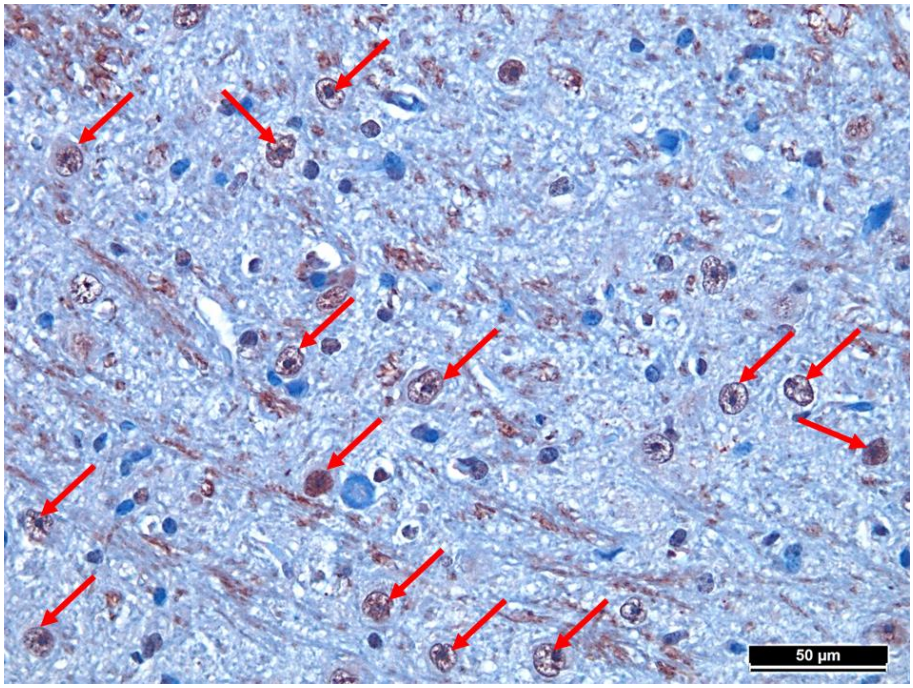
Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin kesitlerindeki PARK6 (PINK1) immün işaretlemesi açısından CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,031**) ve EF deney grubu ile EM deney grubu (**p=0,018**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.13). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin kesitlerindeki PARK6 (PINK1) immün işaretlemesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (**p=0,027**) ve bu durumun EF deney grubu ile EM deney grubu (**p=0,029**) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı tespit edildi (Çizelge 4.14). İkili karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda orta beyin kesitlerinde PARK6 (PINK1) immün işaretlemesinin CF kontrol grubu ve EF deney grubuna göre EM deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.13). Çoklu karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda orta beyin kesitlerinde PARK6 (PINK1) immün işaretlemesinin EF deney grubuna göre EM deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi (Çizelge 4.14). Bu sonuçlar doğrultusunda orta beyin kesitlerinde PARK6 (PINK1) immün işaretlemesinin kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadığı belirlendi (Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14).

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyin korteksi kesitlerindeki PARK6 (PINK1) immün işaretlemesi açısından CF kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,029**) ve EF deney grubu ile EM deney grubu (**p=0,015**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.13). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyin korteksi kesitlerindeki PARK6 (PINK1) immün işaretlemesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (**p=0,023**). Bu durumun CF kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,042**) ve EF deney grubu ile EM deney grubu (**p=0,035**) arasındaki anlamlı farklardan kaynaklandığı tespit edildi (Çizelge 4.14). Hem ikili hem de çoklu karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda beyin korteksi kesitlerindeki PARK6 (PINK1) immün işaretlemesinin EF deney grubuna göre CF kontrol grubu ve EM deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ancak kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadığı belirlendi (Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14).

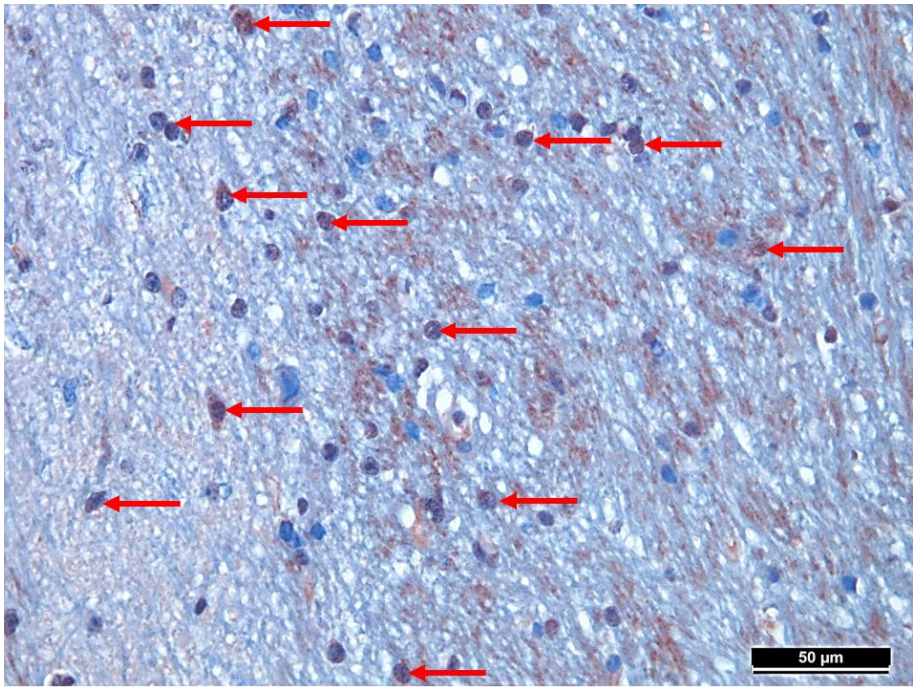
Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyincik kesitlerindeki PARK6 (PINK1) immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı

bulunmadı (Çizelge 4.13). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyincik kesitlerindeki PARK6 (PINK1) immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,675) (Çizelge 4.14). Bu sonuçlar doğrultusunda beyincik kesitlerindeki PARK6 (PINK1) immün işaretlemesi açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14).

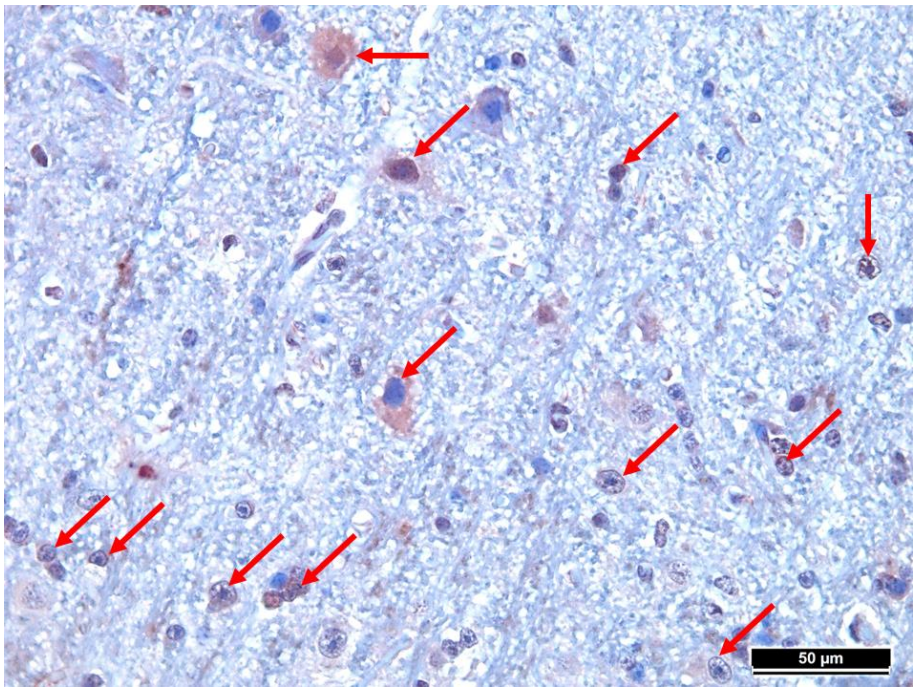
Gruplara ait orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki PARK6 (PINK1) immün işaretlemelerini gösteren fotoğraflar Resim 4.37, Resim 4.38, Resim 4.39, Resim 4.40, Resim 4.41, Resim 4.42, Resim 4.43, Resim 4.44, Resim 4.45, Resim 4.46, Resim 4.47 ve Resim 4.48'de verilmiştir.



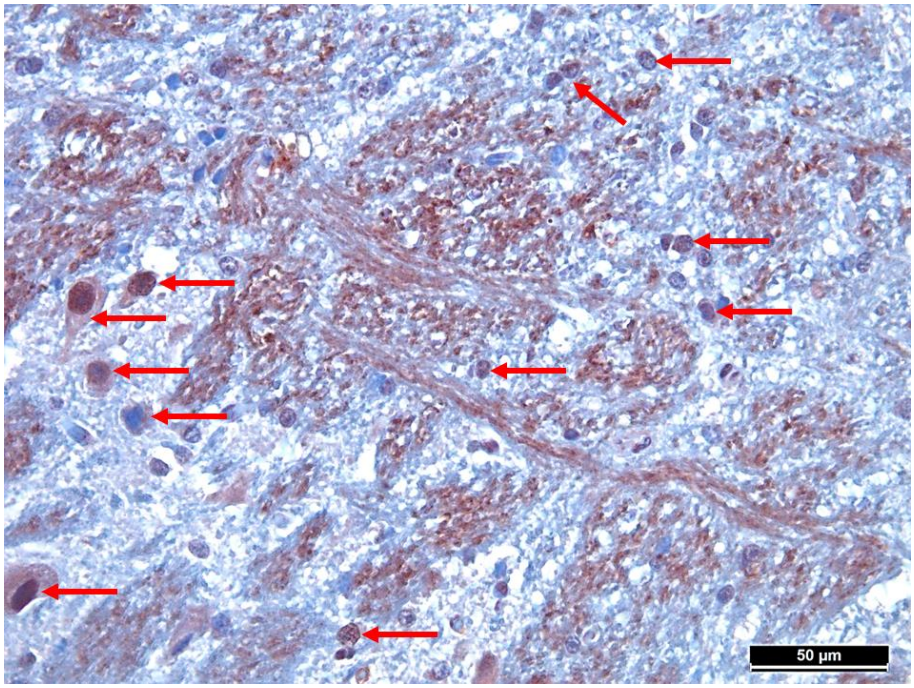
Resim 4.37. CF grubuna ait orta beyin kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



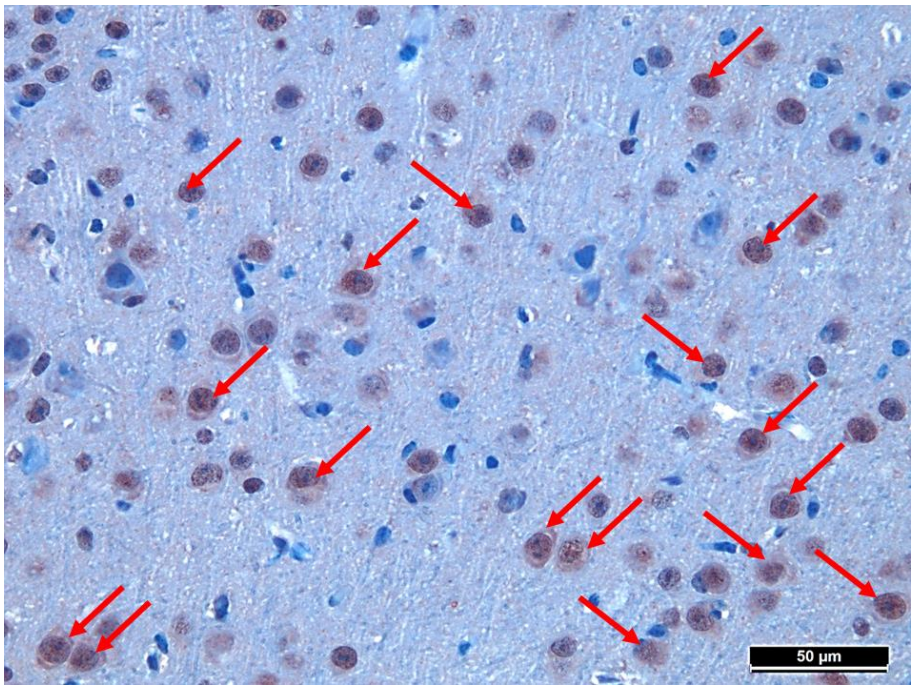
Resim 4.38. EF grubuna ait orta beyin kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



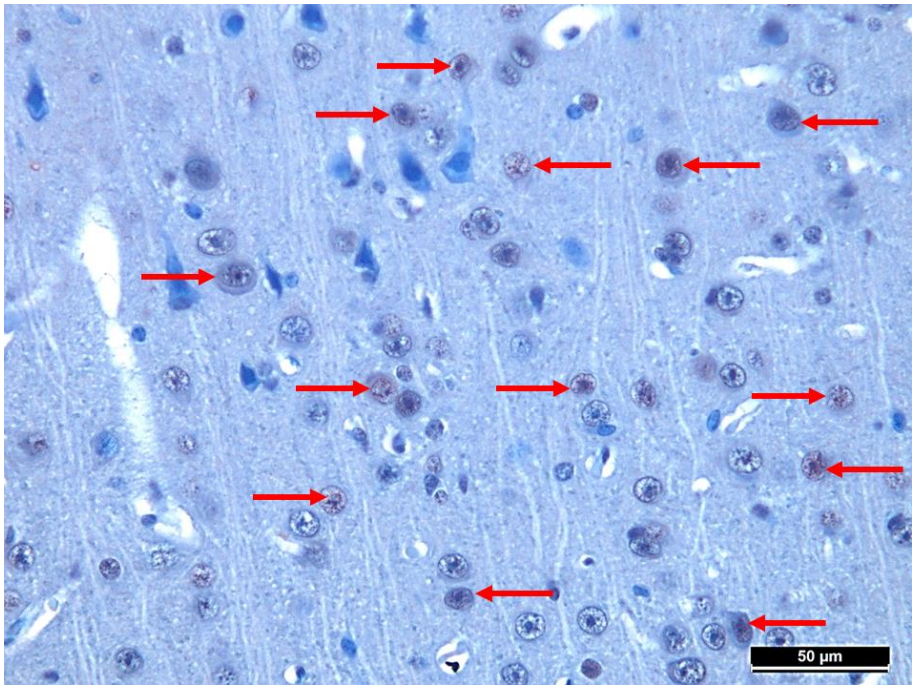
Resim 4.39. CM grubuna ait orta beyin kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



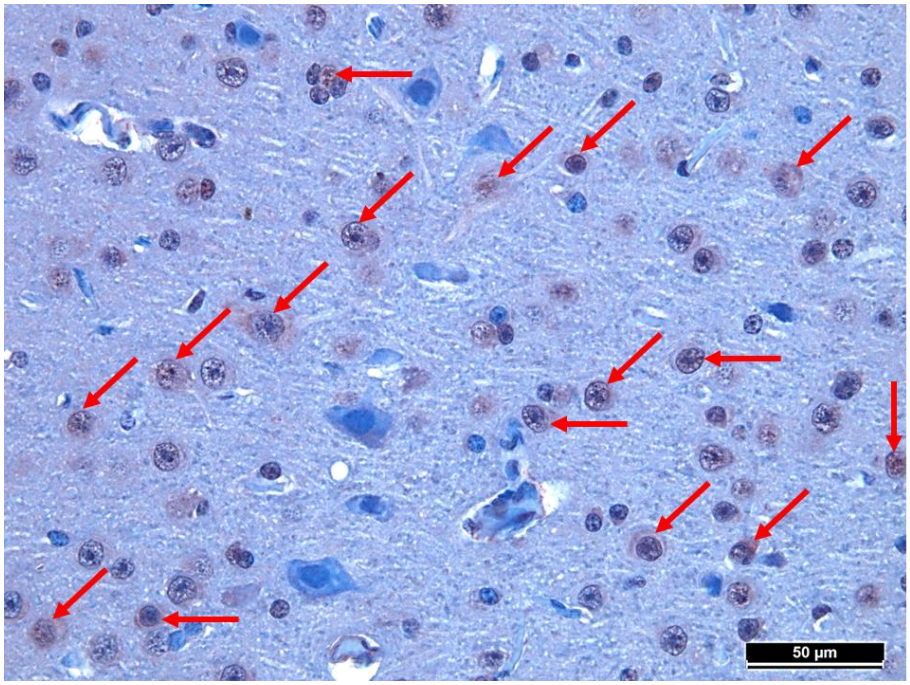
Resim 4.40. EM grubuna ait orta beyin kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



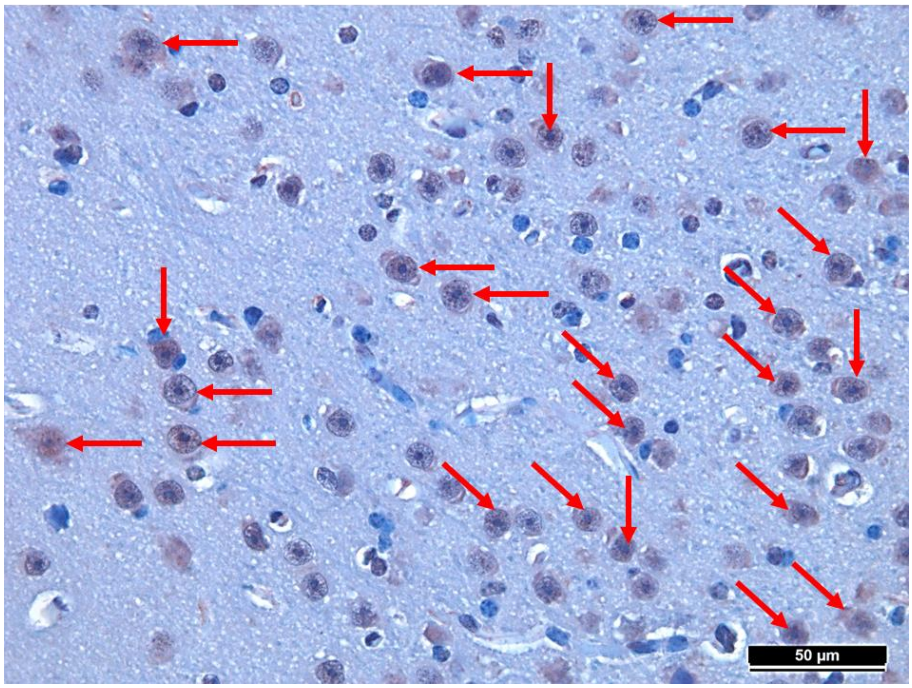
Resim 4.41. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



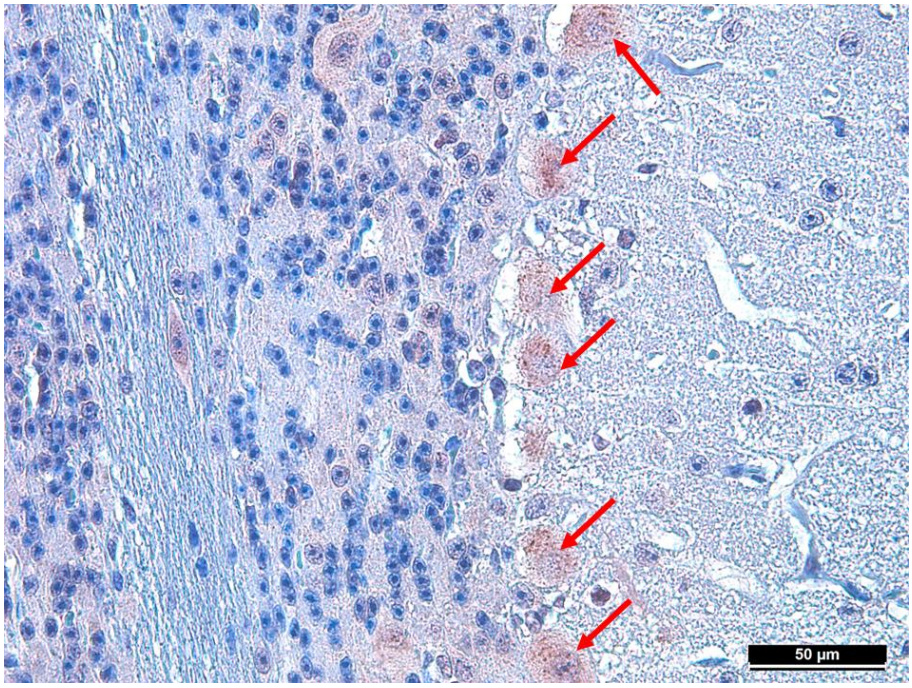
Resim 4.42. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



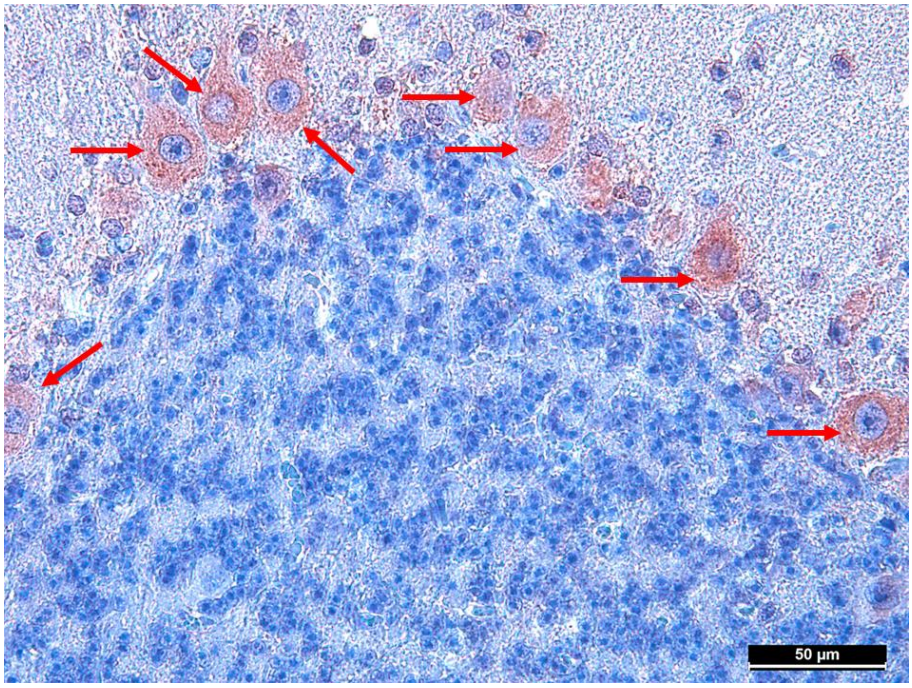
Resim 4.43. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



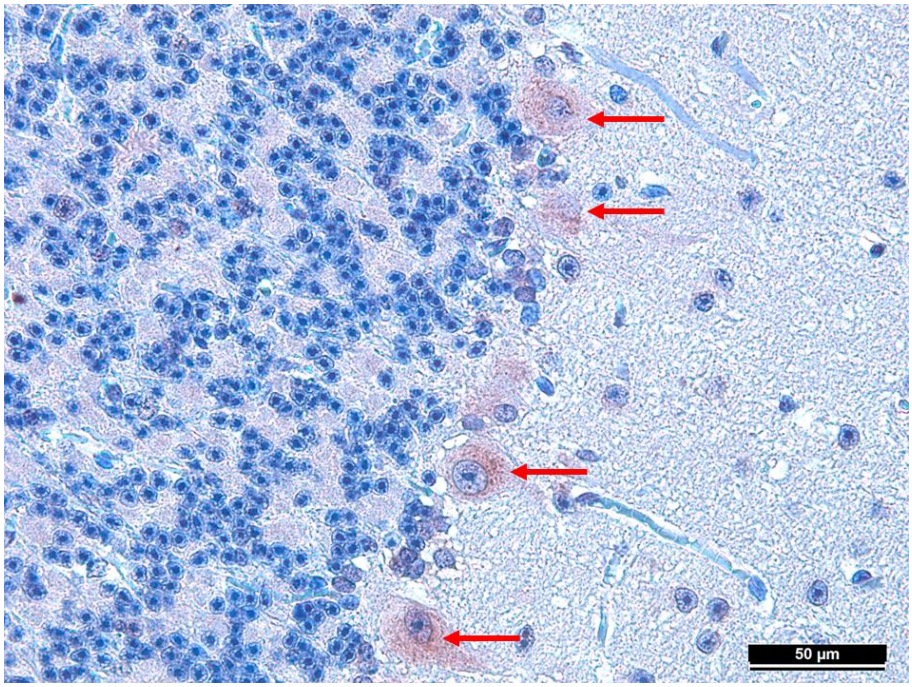
Resim 4.44. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



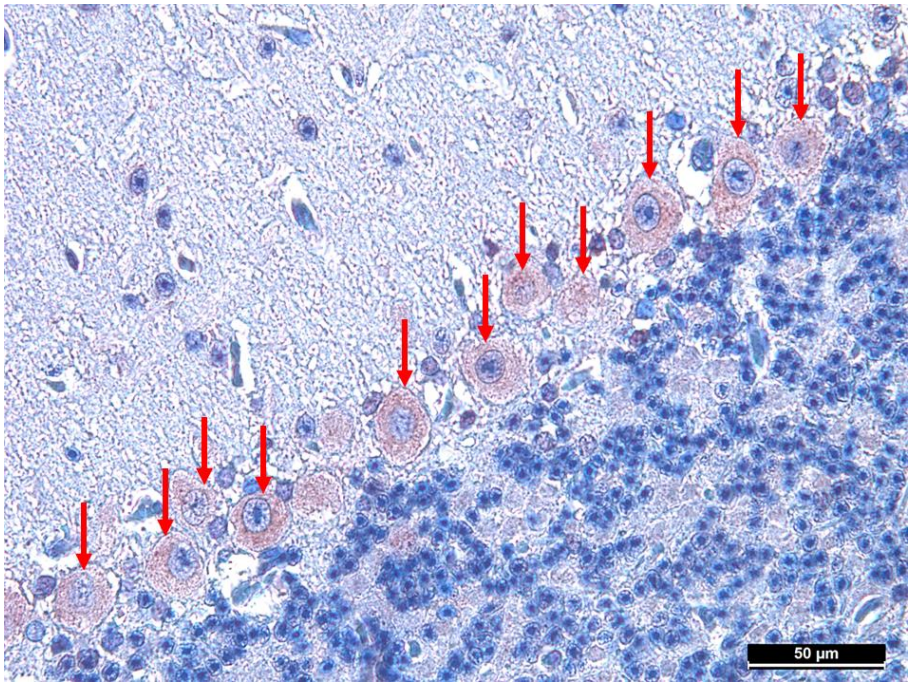
Resim 4.45. CF grubuna ait beyincik kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.46. EF grubuna ait beyincik kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.47. CM grubuna ait beyincik kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.48. EM grubuna ait beyincik kesitinde PARK6 (PINK1) immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)

4.3.3. SNCA immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

SNCA ile immünohistokimyasal olarak işaretlenen her bir beyin (orta beyin ve beyin korteksi) ve beyincik kesitinden 400X büyütmede rastgele 6 tane alan seçildi. İmmünpozitif alanların yoğunluğu, ImageJ programı (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, Maryland, ABD) kullanılarak yüzde olarak belirlendi. Değerlendirmelerin sonunda SNCA immün işaretlemesi için istatistiksel veri oluşturuldu. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.15 ve Çizelge 4.16'da verilirken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin medyan değerleri Çizelge 4.17'de verilmiştir. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için bağımlı örneklem t-testi kullanılırken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için Mann-Whitney testi kullanıldı (Çizelge 4.18). Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için ANOVA kullanıldı (Çizelge 4.19). ANOVA ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı Tukey HSD yöntemi ile değerlendirildi (Çizelge 4.19). Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin çoklu karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı (Çizelge 4.19). Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek

Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi. İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki SNCA immün işaretlemelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.2c, Şekil 4.4c ve Şekil 4.6c'de verilmiştir.

Çizelge 4.15. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde SNCA immün işaretlemelerine ait ortalama değerler

SNCA (Ortalama değer)						
Orta beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	1,252	0,859	1,212	1,687	1,073	1,449

Çizelge 4.16. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde SNCA immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri

SNCA (Standart sapma değeri)						
Orta beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,368	0,477	0,615	0,340	0,448	0,535

Çizelge 4.17. Deney gruplarına göre beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde SNCA immün işaretlemelerine ait medyan değerleri

SNCA (Medyan değeri)						
Beyin korteksi	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,418	0,394	0,372	0,477	0,394	0,453
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,418	0,733	0,536	1,016	0,613	0,697

Çizelge 4.18. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde SNCA immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) α: Bağımlı örneklem t-testi, β: Mann-Whitney testi

	SNCA (P değeri)		
	Orta beyin	Beyin korteksi	Beyincik
CF / CM	0,158$^{\alpha}$	1,000$^{\beta}$	0,247$^{\beta}$
CF / EF	0,894$^{\alpha}$	0,485$^{\beta}$	0,937$^{\beta}$
CF / EM	0,060$^{\alpha}$	0,589$^{\beta}$	0,065$^{\beta}$
CM / EF	0,325$^{\alpha}$	0,537$^{\beta}$	0,126$^{\beta}$
CM / EM	**0,008$^{\alpha}$**	0,537$^{\beta}$	0,329$^{\beta}$
EF / EM	0,129$^{\alpha}$	0,240$^{\beta}$	**0,041$^{\beta}$**
CG / EG	0,084$^{\alpha}$	0,976$^{\beta}$	0,651$^{\beta}$

Çizelge 4.19. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde SNCA immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) γ: ANOVA, δ: Kruskal-Wallis testi

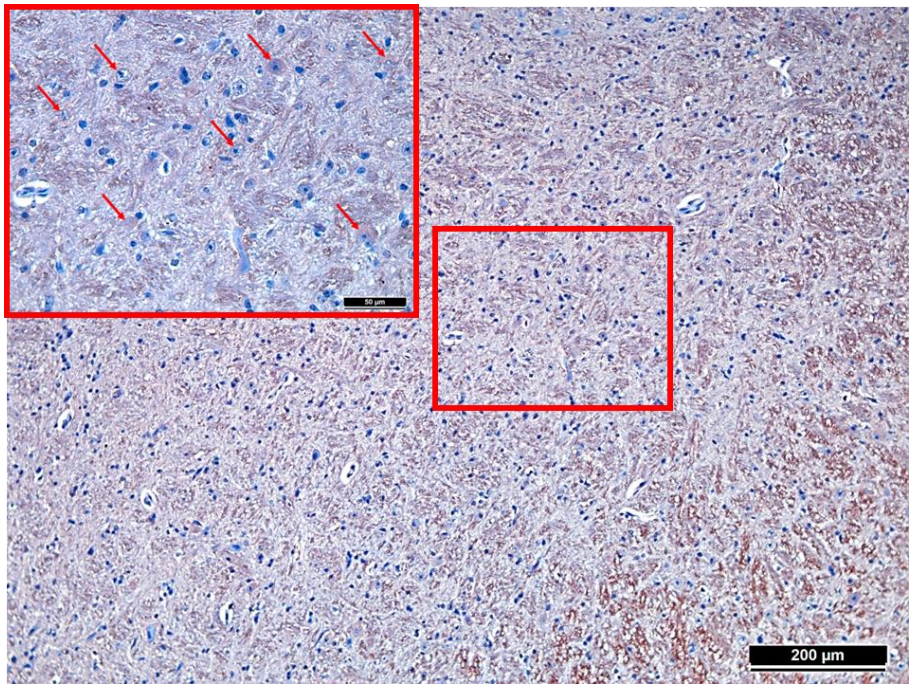
	SNCA (P değeri)	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Orta beyin	0,058$^{\gamma}$	CM / EM (Tukey HSD, **p=0,37**)
Beyin korteksi	0,602$^{\delta}$	-
Beyincik	0,072$^{\delta}$	-

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin kesitlerindeki SNCA immün işaretlemesi açısından CM kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,008**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.18). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin kesitlerindeki SNCA immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,058); ancak Tukey HSD testi ile CM kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,037**) arasında anlamlı fark tespit edildi (Çizelge 4.19). Hem ikili hem de çoklu karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda orta beyin kesitlerinde SNCA immün işaretlemesinin CM kontrol grubuna göre EM deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ancak kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlendi (Çizelge 4.18 ve Çizelge 4.19).

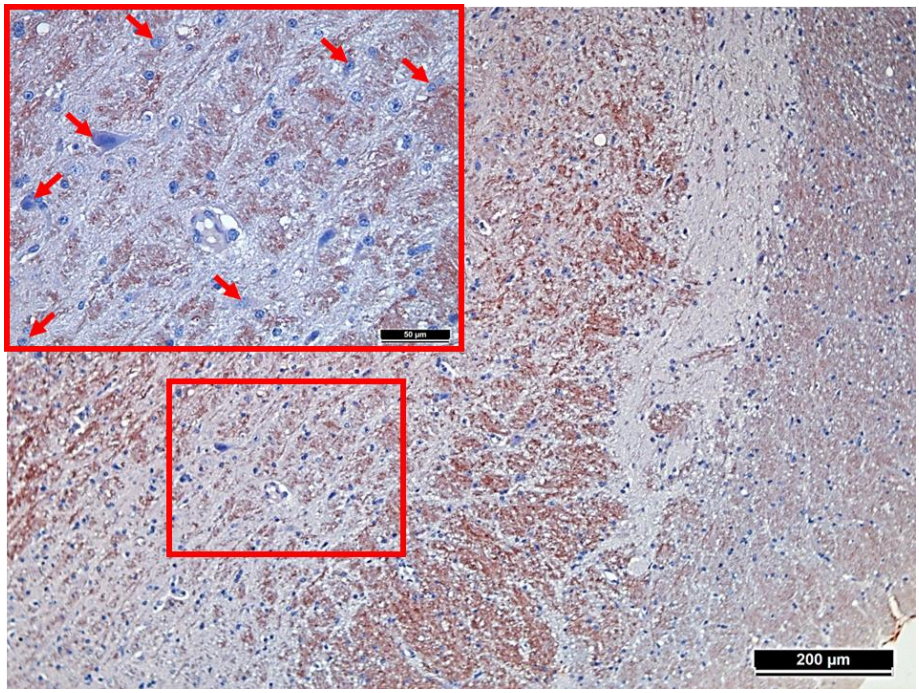
Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyin korteksi kesitlerindeki SNCA immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.18). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyin korteksi kesitlerindeki SNCA immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,602) (Çizelge 4.19). Bu sonuçlar doğrultusunda beyin korteksi kesitlerindeki SNCA immün işaretlemesi açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.18 ve Çizelge 4.19).

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyincik kesitlerindeki SNCA immün işaretlemesi açısından EF deney grubu ile EM deney grubu (**p=0,041**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.18). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyincik kesitlerindeki SNCA immün işaretlemesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,072) (Çizelge 4.19). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda beyincik kesitlerindeki SNCA immün işaretlemesinin EF deney grubuna göre EM deney grubunda arttığı belirlendi (Çizelge 4.18). Hem ikili hem de çoklu karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda beyincik kesitlerindeki SNCA immün işaretlemesi açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.18 ve Çizelge 4.19).

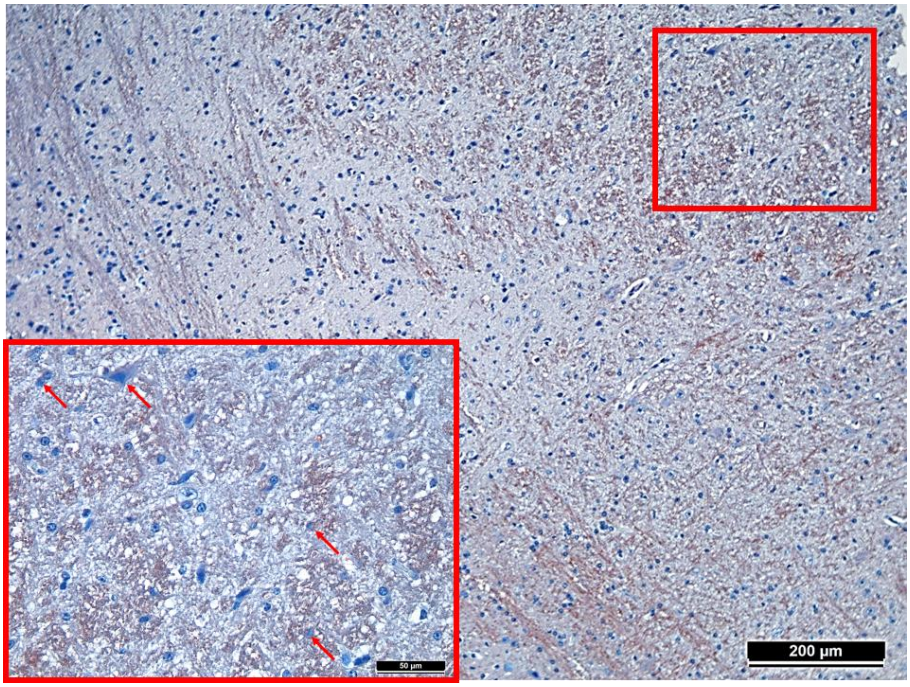
Gruplara ait orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki SNCA immün işaretlemelerini gösteren fotoğraflar Resim 4.49, Resim 4.50, Resim 4.51, Resim 4.52, Resim 4.53, Resim 4.54, Resim 4.55, Resim 4.56, Resim 4.57, Resim 4.58, Resim 4.59 ve Resim 4.60’ta verilmiştir.



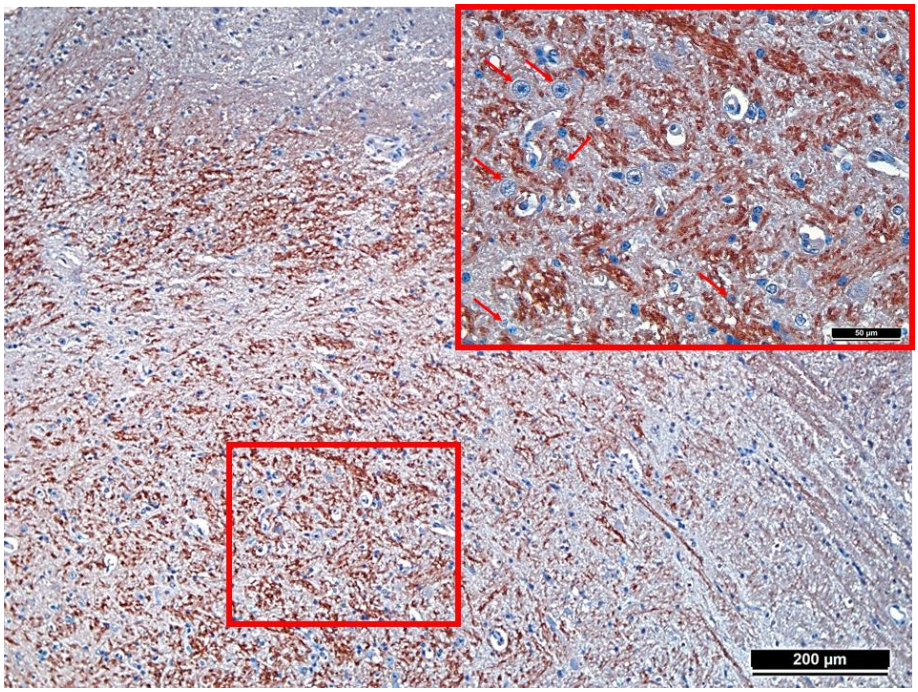
Resim 4.49. CF grubuna ait orta beyin kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (küçük resim X400, büyük resim X100)



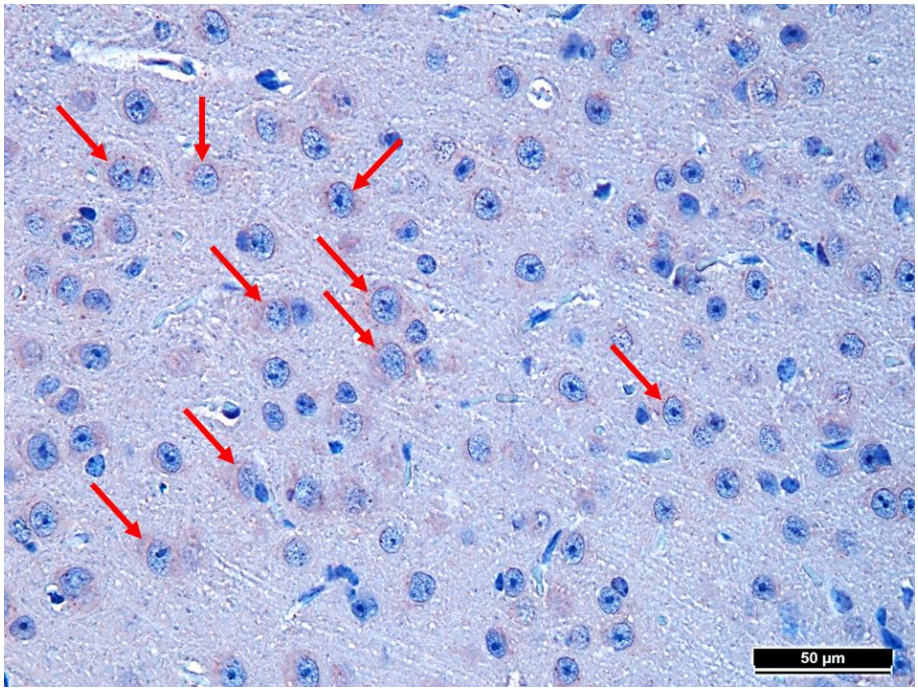
Resim 4.50. EF grubuna ait orta beyin kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (küçük resim X400, büyük resim X100)



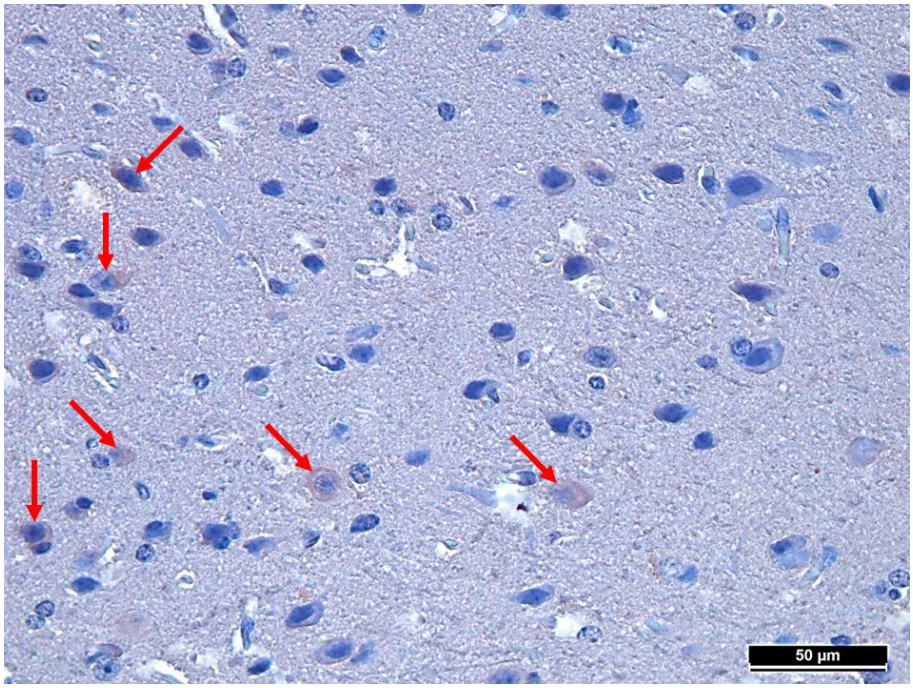
Resim 4.51. CM grubuna ait orta beyin kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (küçük resim X400, büyük resim X100)



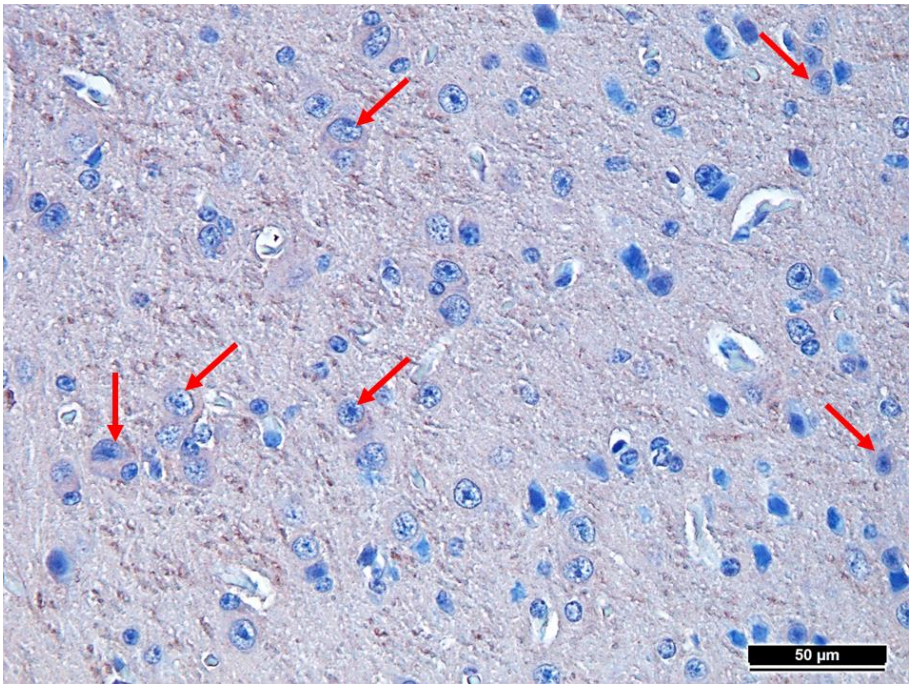
Resim 4.52. EM grubuna ait orta beyin kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (küçük resim X400, büyük resim X100)



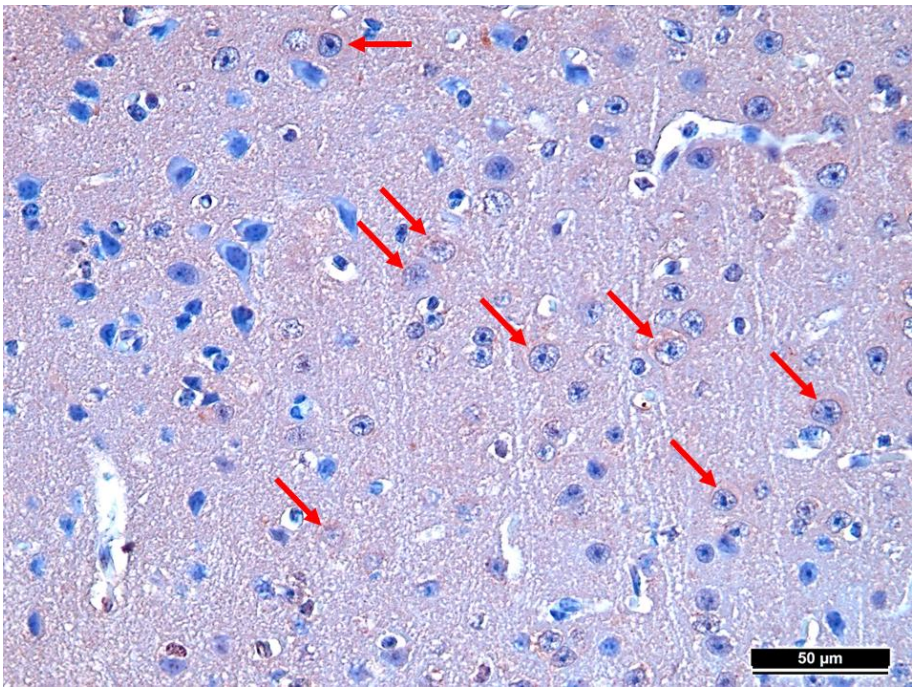
Resim 4.53. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



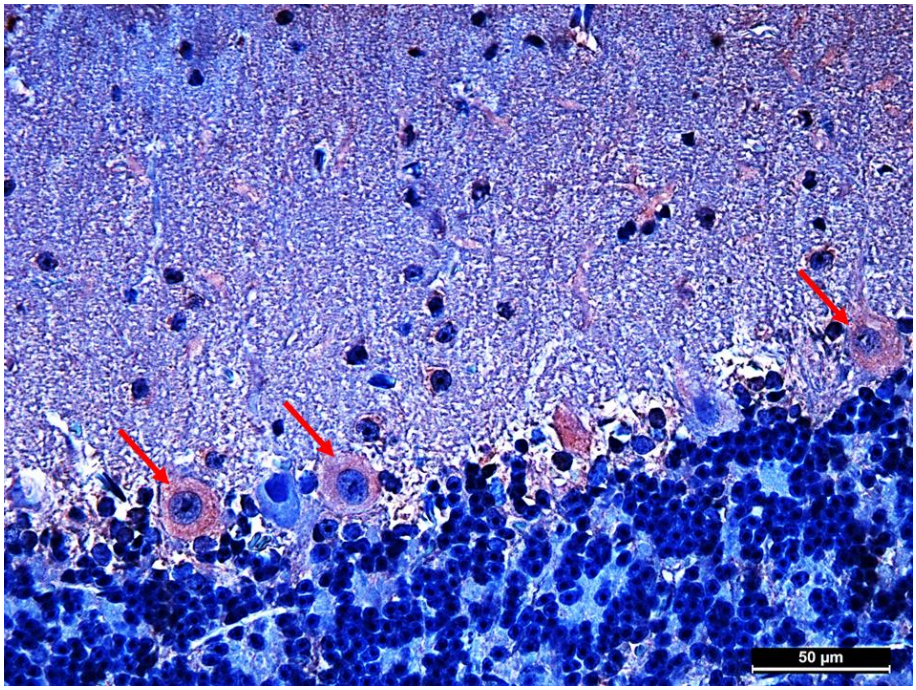
Resim 4.54. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



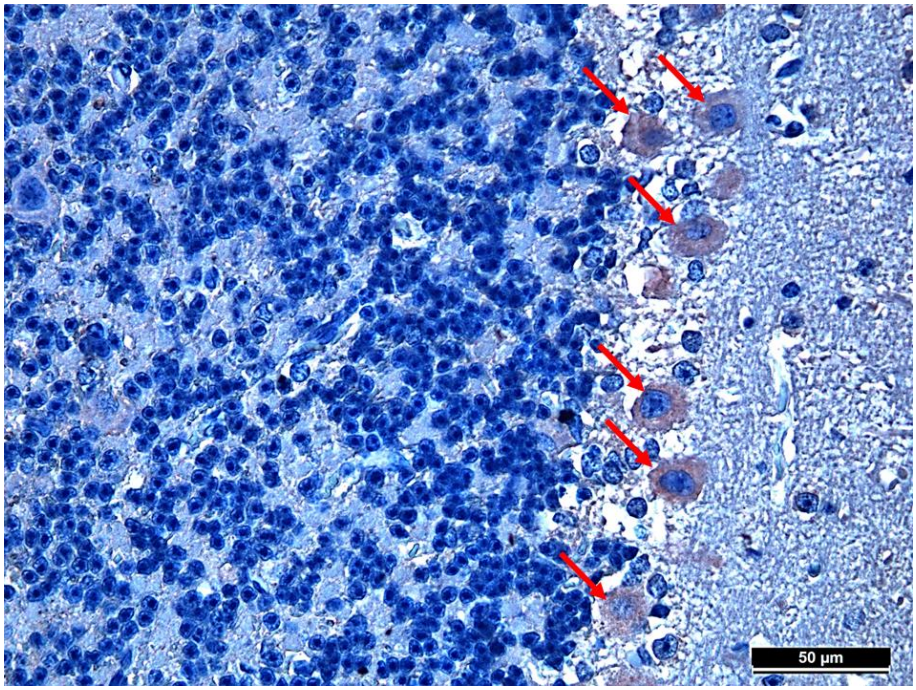
Resim 4.55. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



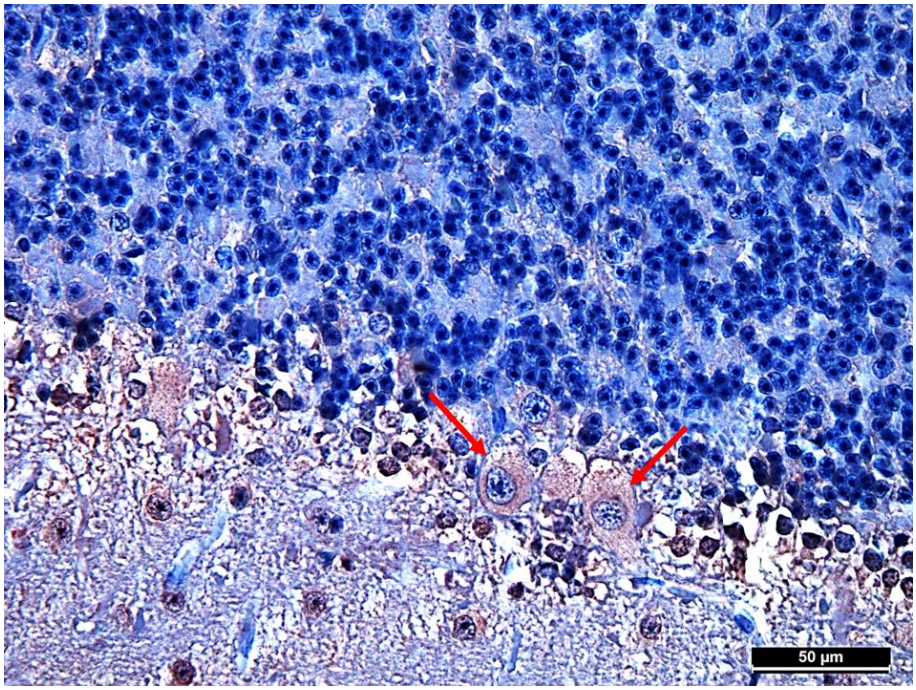
Resim 4.56. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



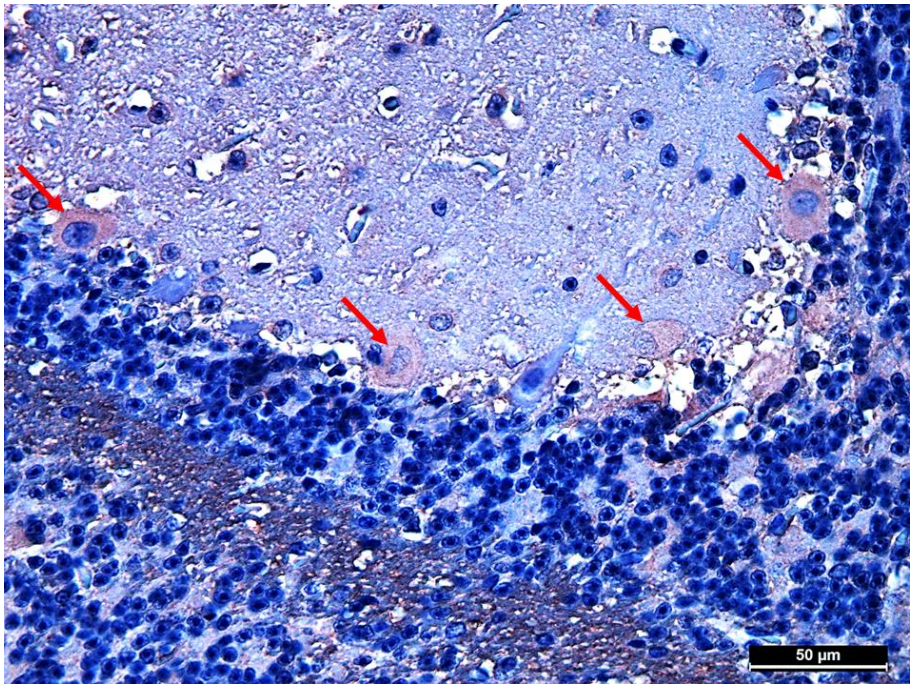
Resim 4.57. CF grubuna ait beyincik kesitinde SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



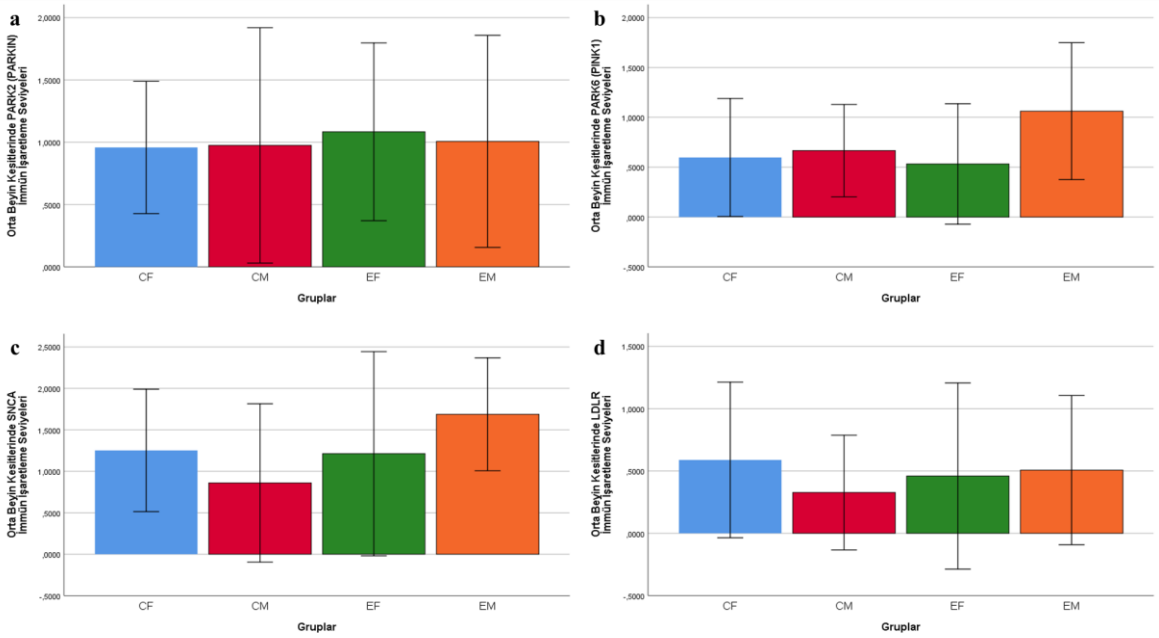
Resim 4.58. EF grubuna ait beyincik kesitinde SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



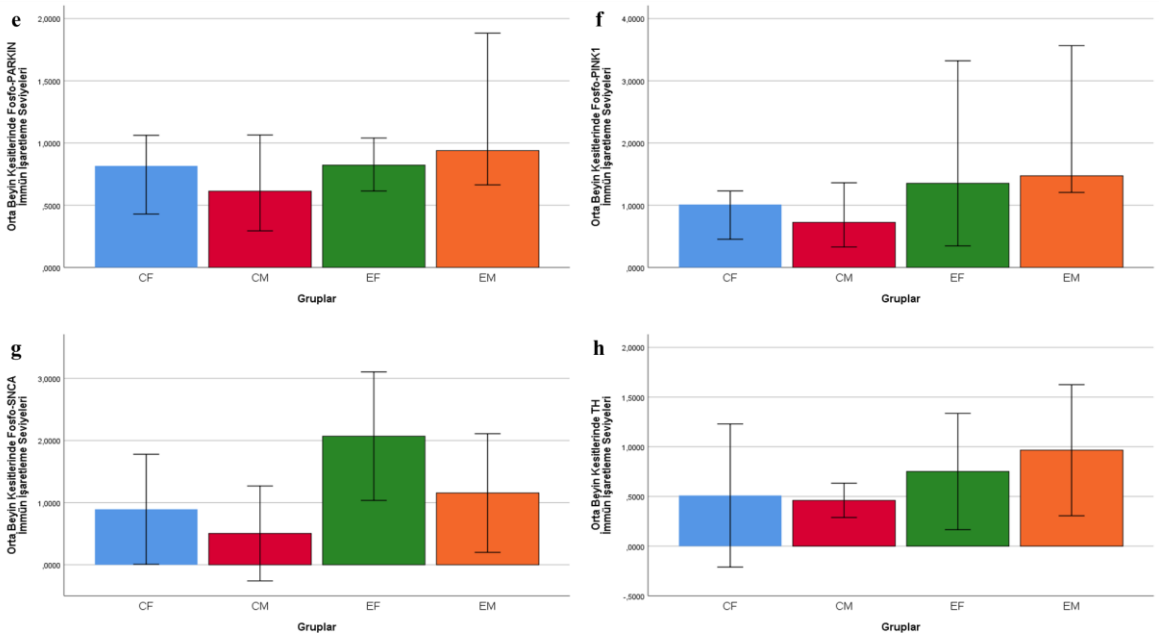
Resim 4.59. CM grubuna ait beyincik kesitinde SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.60. EM grubuna ait beyincik kesitinde SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Şekil 4.2. Gruplara göre orta beyin kesitlerinde (a) PARK2 (PARKIN), (b) PARK6 (PINK1), (c) SNCA ve (d) LDLR immün işaretlemeleri



Şekil 4.3. Gruplara göre orta beyin kesitlerinde (e) fosfo-PARKIN, (f) fosfo-PINK1, (g) fosfo-SNCA ve (h) TH immün işaretlemeleri

4.3.4. LDLR immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

LDLR ile immünohistokimyasal olarak işaretlenen her bir beyin (orta beyin ve beyin

korteksi) ve beyincik kesitinden 400X büyütmede rastgele 6 tane alan seçildi. İmmünpozitif alanların yoğunluğu, ImageJ programı (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, Maryland, ABD) kullanılarak yüzde olarak belirlendi. Değerlendirmelerin sonunda LDLR immün işaretlemesi için istatistiksel veri oluşturuldu. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.20 ve Çizelge 4.21'de verilirken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin medyan değerleri Çizelge 4.22'de verilmiştir. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için bağımlı örneklem t-testi kullanılırken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için Mann-Whitney testi kullanıldı (Çizelge 4.23). Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için ANOVA kullanıldı (Çizelge 4.24). ANOVA ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı Tukey HSD yöntemi ile değerlendirildi. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin çoklu karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı (Çizelge 4.24). Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi (Çizelge 4.24). İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki LDLR immün işaretlemelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.2d, Şekil 4.4d ve Şekil 4.6d'de verilmiştir.

Çizelge 4.20. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde LDLR immün işaretlemelerine ait ortalama değerler

	LDLR (Ortalama değer)					
	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
Orta beyin	0,588	0,326	0,459	0,506	0,469	0,483

Çizelge 4.21. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde LDLR immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri

	LDLR (Standart sapma değeri)					
	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
Orta beyin	0,312	0,230	0,373	0,299	0,297	0,323

Çizelge 4.22. Deney gruplarına göre beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde LDLR immün işaretlemelerine ait medyan değerleri

LDLR (Medyan değeri)						
Beyin korteksi	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,138	0,246	0,127	0,164	0,173	0,164
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,193	0,343	0,264	0,539	0,319	0,393

Çizelge 4.23. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde LDLR immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) α: Bağımlı örneklem t-testi, β: Mann-Whitney testi

	LDLR (P değeri)		
	Orta beyin	Beyin korteksi	Beyincik
CF / CM	$0,155^{\alpha}$	$0,329^{\beta}$	$0,126^{\beta}$
CF / EF	$0,531^{\alpha}$	$0,818^{\beta}$	$0,394^{\beta}$
CF / EM	$0,654^{\alpha}$	$1,000^{\beta}$	**$0,009^{\beta}$**
CM / EF	$0,508^{\alpha}$	$0,329^{\beta}$	$0,429^{\beta}$
CM / EM	$0,301^{\alpha}$	$0,247^{\beta}$	$0,429^{\beta}$
EF / EM	$0,813^{\alpha}$	$0,937^{\beta}$	**$0,026^{\beta}$**
CG / EG	$0,918^{\alpha}$	$0,379^{\beta}$	$0,190^{\beta}$

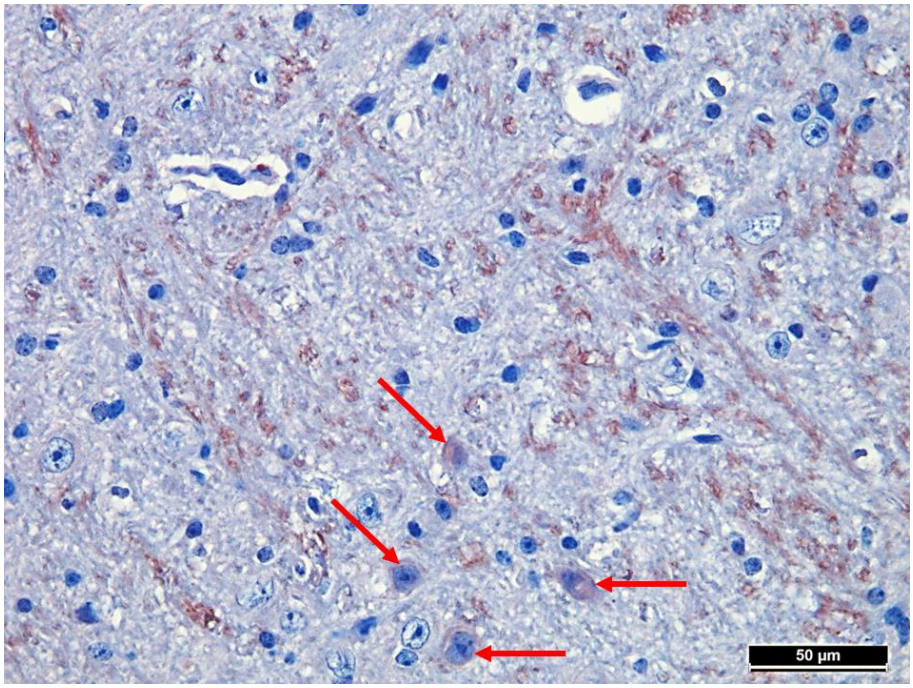
Çizelge 4.24. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde LDLR immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) γ: ANOVA, δ: Kruskal-Wallis testi, *: Bonferroni düzeltmesi

	LDLR (P değeri)	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Orta beyin	$0,582^{\gamma}$	-
Beyin korteksi	$0,562^{\delta}$	-
Beyincik	**$0,031^{\delta}$**	CF / EM (SPSS 26.0-Analyze-Nonparametric Tests-Independent Samples-Customize Tests-Kruskal Wallis Test, **p=0,050*)**

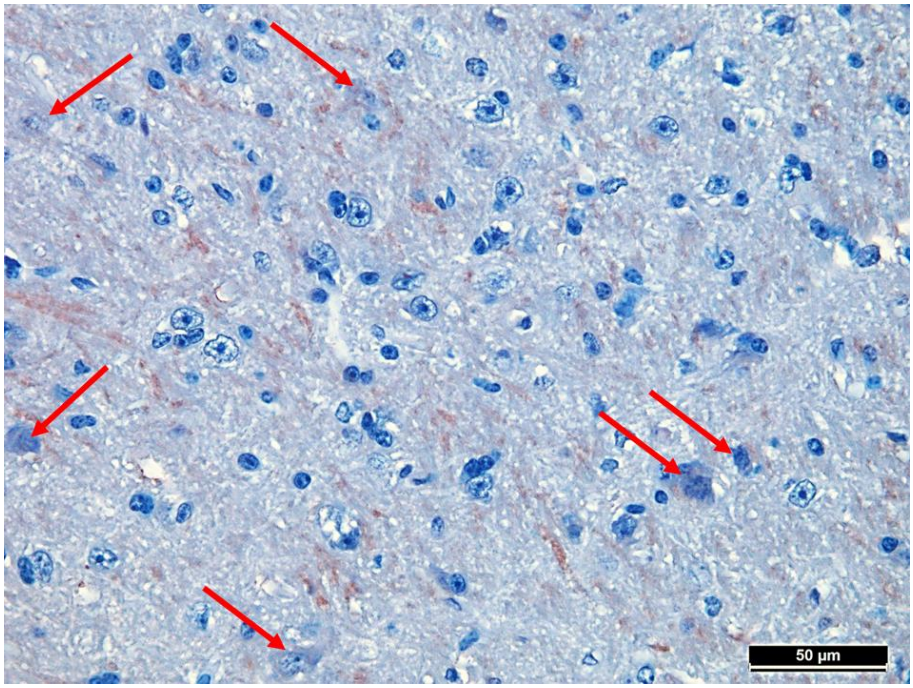
Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin ve beyin korteksi kesitlerindeki LDLR immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.23). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin (p=0,582) ve beyin korteksi (p=0,562) kesitlerindeki LDLR immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.24). Bu sonuçlar doğrultusunda orta beyin ve beyin korteksi kesitlerindeki LDLR immün işaretlemesi açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.23 ve Çizelge 4.24).

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyincik kesitlerindeki LDLR immün işaretlemesi açısından CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,009**) ve EF deney grubu ile EM deney grubu (**p=0,026**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.23). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyincik kesitlerindeki LDLR immün işaretlemesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (**p=0,031**). Bu durumun CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,050**) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı tespit edildi (Çizelge 4.24). İkili karşılaştırmalar doğrultusunda beyincik kesitlerinde LDLR immün işaretlemesinin EF deney grubuna göre EM deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi (Çizelge 4.23). Hem ikili hem de çoklu karşılaştırmalar doğrultusunda beyincik kesitlerinde LDLR immün işaretlemesinin CF kontrol grubuna göre EM deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ancak kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadığı belirlendi (Çizelge 4.23 ve Çizelge 4.24).

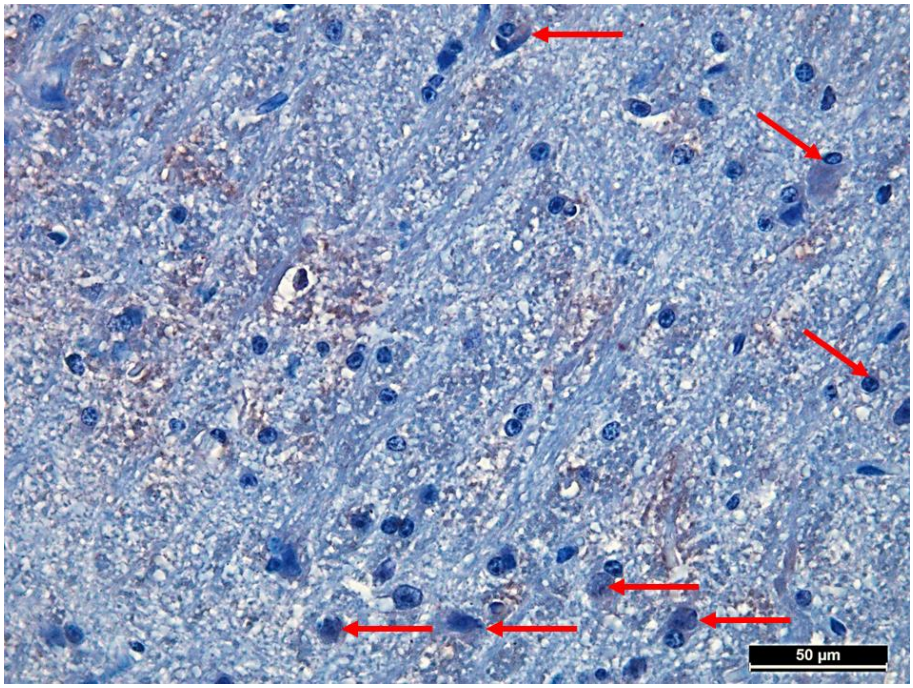
Gruplara ait orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki LDLR immün işaretlemelerini gösteren fotoğraflar Resim 4.61, Resim 4.62, Resim 4.63, Resim 4.64, Resim 4.65, Resim 4.66, Resim 4.67, Resim 4.68, Resim 4.69, Resim 4.70, Resim 4.71 ve Resim 4.72’de verilmiştir.



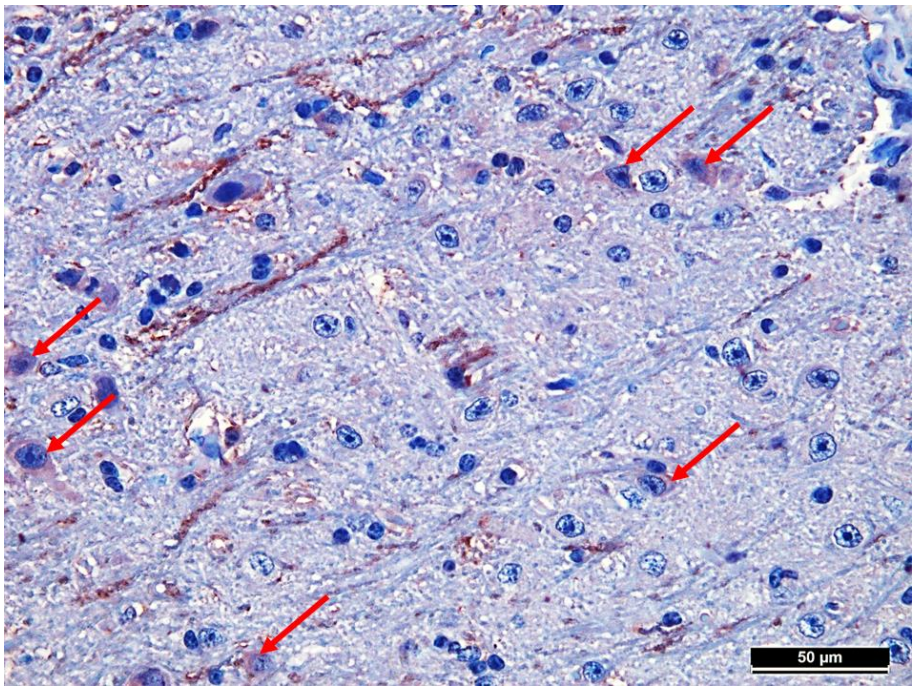
Resim 4.61. CF grubuna ait orta beyin kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



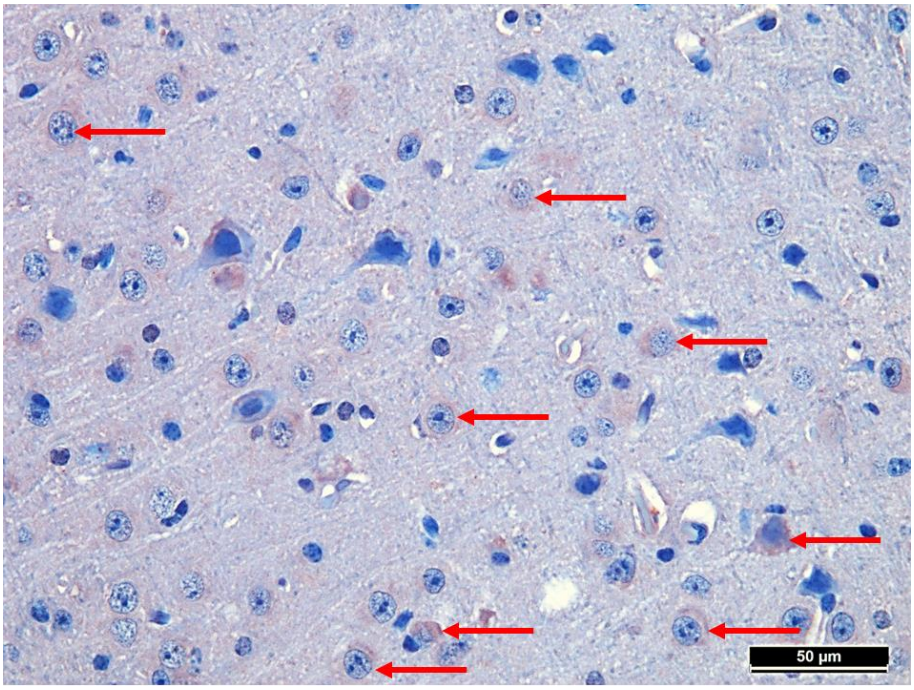
Resim 4.62. EF grubuna ait orta beyin kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



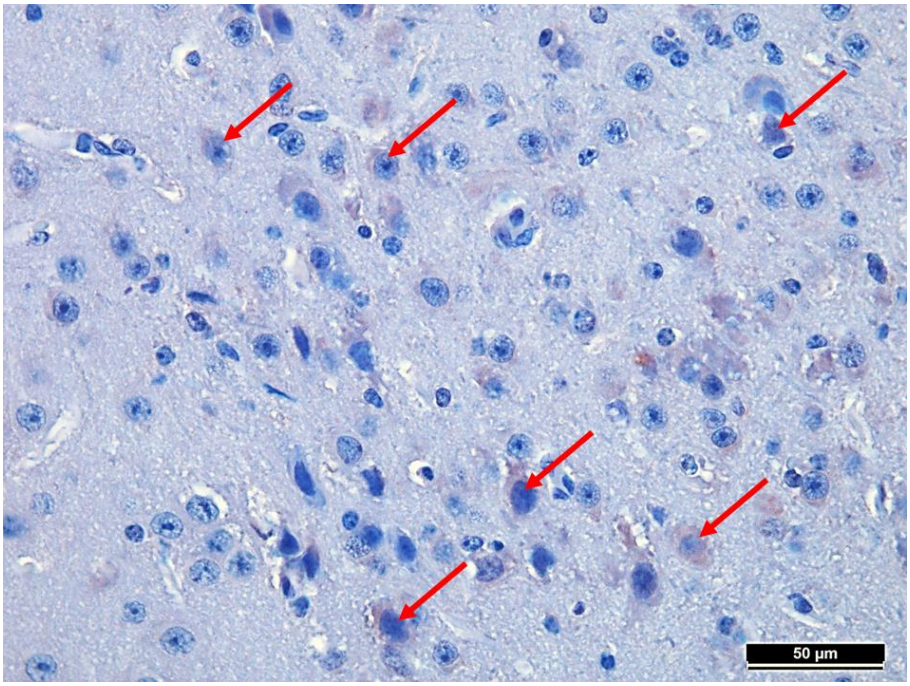
Resim 4.63. CM grubuna ait orta beyin kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



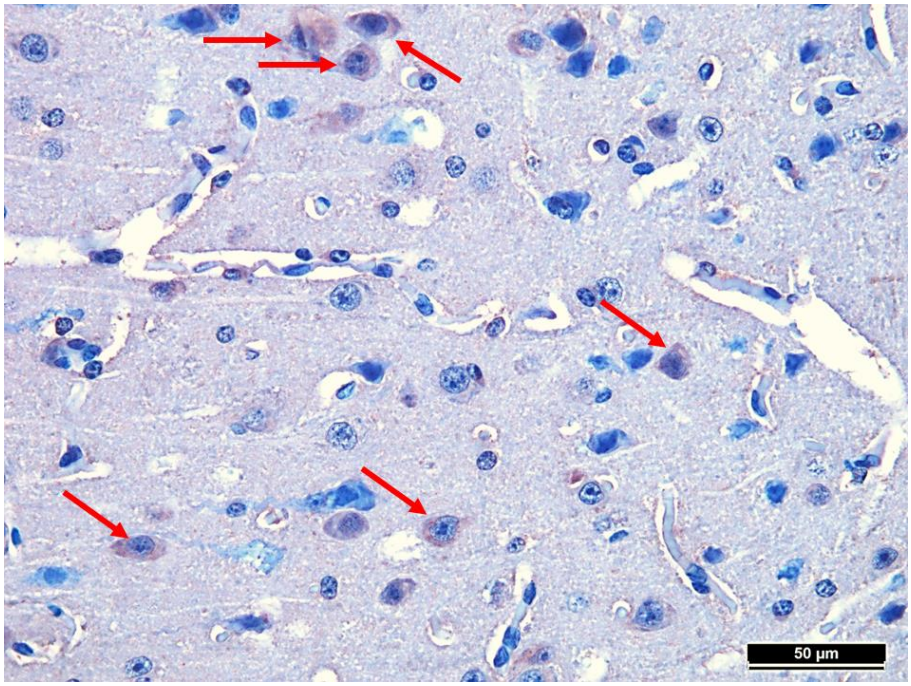
Resim 4.64. EM grubuna ait orta beyin kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



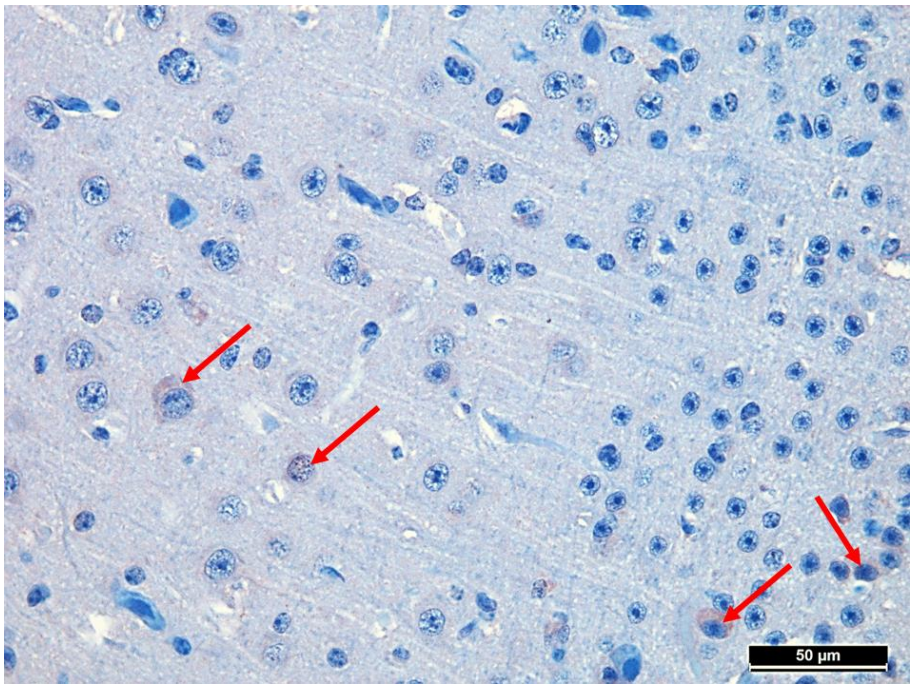
Resim 4.65. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



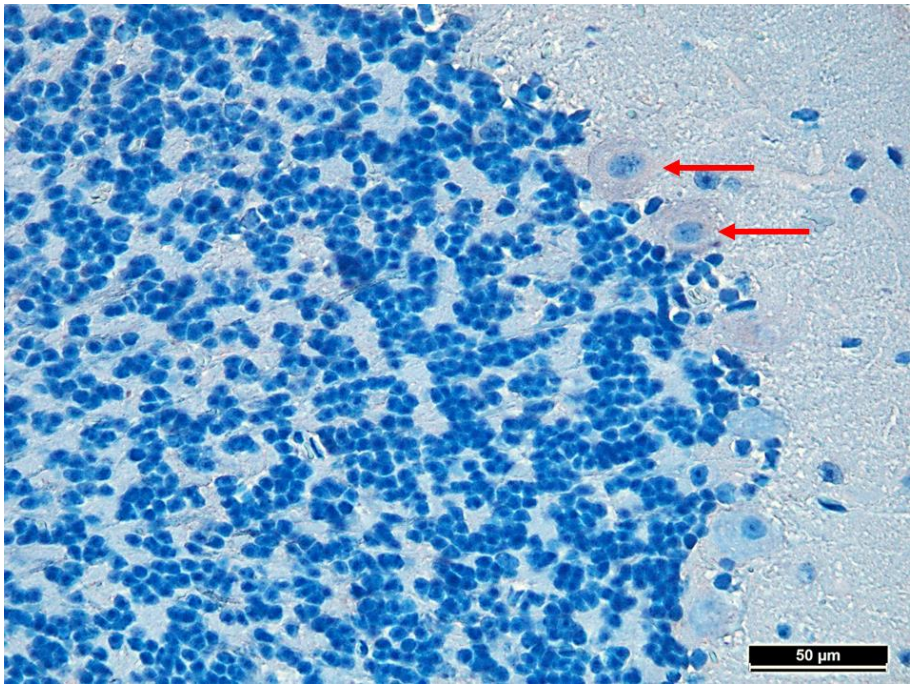
Resim 4.66. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



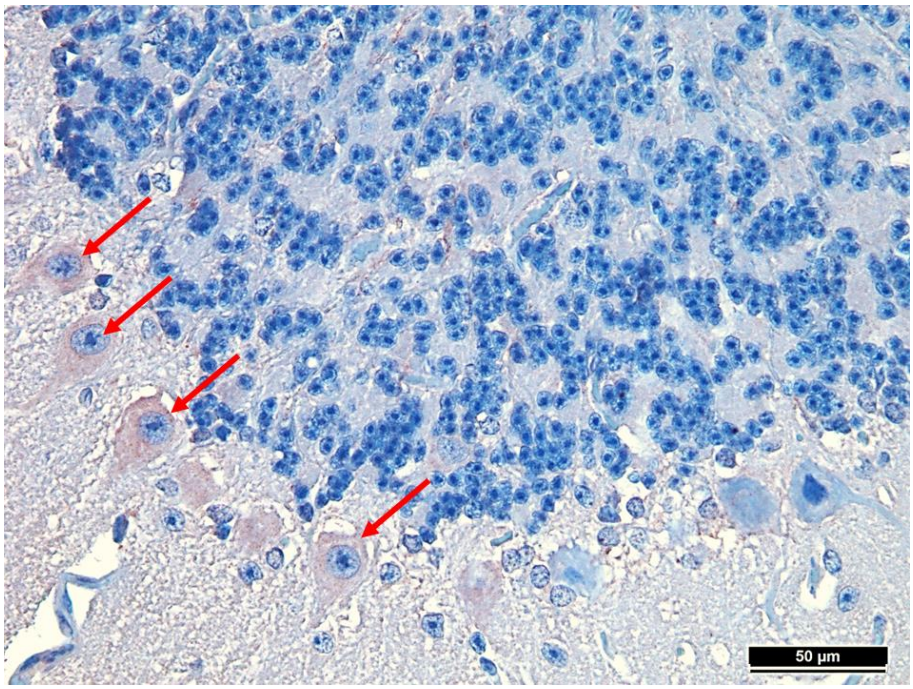
Resim 4.67. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



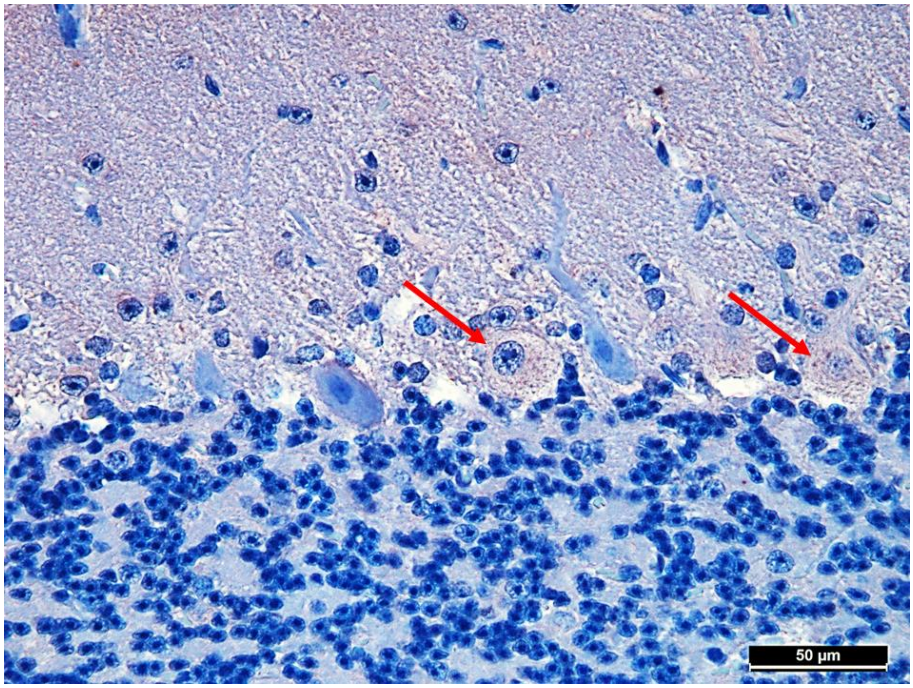
Resim 4.68. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde LDLR immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



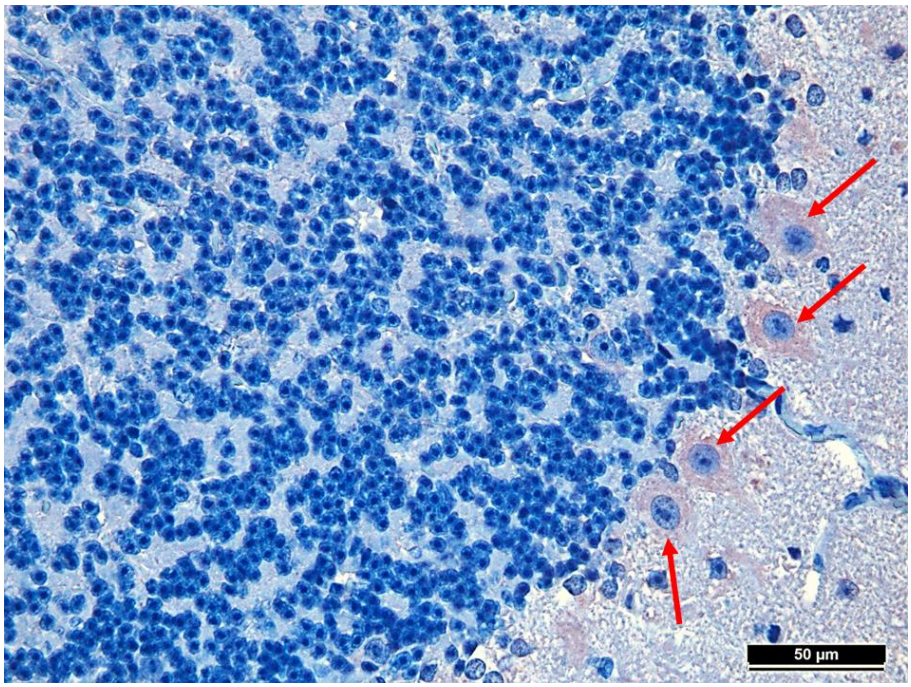
Resim 4.69. CF grubuna ait beyincik kesitinde LDLR immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.70. EF grubuna ait beyincik kesitinde LDLR immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.71. CM grubuna ait beyincik kesitinde LDLR immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.72. EM grubuna ait beyincik kesitinde LDLR immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)

4.3.5. Fosfo-PARKIN immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Fosfo-PARKIN ile immünohistokimyasal olarak işaretlenen her bir beyin (orta beyin ve beyin korteksi) ve beyincik kesitinden 400X büyütmede rastgele 6 tane alan seçildi. İmmünpozitif alanların yoğunluğu, ImageJ programı (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, Maryland, ABD) kullanılarak yüzde olarak belirlendi. Değerlendirmelerin sonunda fosfo-PARKIN immün işaretlemesi için istatistiksel veri oluşturuldu. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.25 ve Çizelge 4.26'da verilirken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin medyan değerleri Çizelge 4.27'de verilmiştir. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için bağımlı örneklem t-testi kullanılırken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için Mann-Whitney testi kullanıldı (Çizelge 4.28). Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için ANOVA kullanıldı (Çizelge 4.29). ANOVA ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı Tukey HSD yöntemi ile değerlendirildi. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı (Çizelge 4.29). Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi. İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki fosfo-PARKIN immün işaretlemelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.3e, Şekil 4.5e ve Şekil 4.7e'de verilmiştir.

Çizelge 4.25. Deney gruplarına göre beyincik kesitlerinde fosfo-PARKIN immün işaretlemelerine ait ortalama değerler

	Fosfo-PARKIN (Ortalama değer)					
	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
Beyincik	0,411	0,583	0,469	0,681	0,489	0,575

Çizelge 4.26. Deney gruplarına göre beyincik kesitlerinde fosfo-PARKIN immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri

	Fosfo-PARKIN (Standart sapma değeri)					
	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
Beyincik	0,137	0,316	0,243	0,347	0,240	0,306

Çizelge 4.27. Deney gruplarına göre orta beyin ve beyin korteksi kesitlerinde fosfo-PARKIN immün işaretlemelerine ait medyan değerleri

Fosfo-PARKIN (Medyan değeri)						
Orta beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,816	0,613	0,822	0,939	0,672	0,841
Beyin korteksi	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,626	0,828	0,633	0,722	0,698	0,693

Çizelge 4.28. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-PARKIN immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) α: Bağımlı örneklem t-testi, β: Mann-Whitney testi

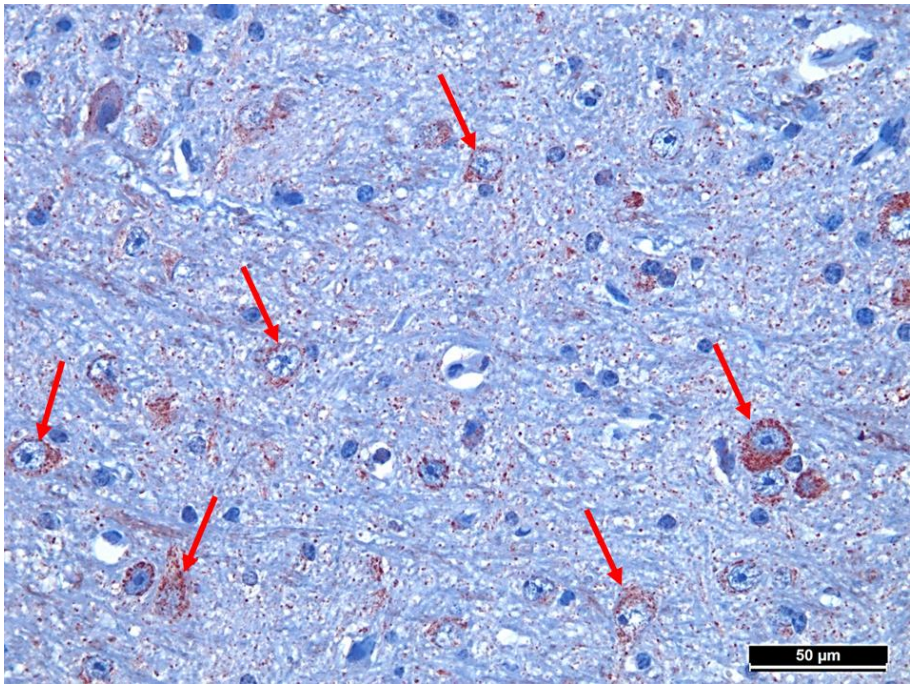
	Fosfo-PARKIN (P değeri)		
	Orta beyin	Beyin korteksi	Beyincik
CF / CM	$0,537^{\beta}$	$0,429^{\beta}$	$0,258^{\alpha}$
CF / EF	$0,937^{\beta}$	$0,937^{\beta}$	$0,625^{\alpha}$
CF / EM	$0,240^{\beta}$	$0,699^{\beta}$	$0,124^{\alpha}$
CM / EF	$0,247^{\beta}$	$0,931^{\beta}$	$0,517^{\alpha}$
CM / EM	$0,052^{\beta}$	$0,931^{\beta}$	$0,640^{\alpha}$
EF / EM	$0,240^{\beta}$	$0,589^{\beta}$	$0,250^{\alpha}$
CG / EG	$0,134^{\beta}$	$0,928^{\beta}$	$0,466^{\alpha}$

Çizelge 4.29. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-PARKIN immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) γ: ANOVA, δ: Kruskal-Wallis testi

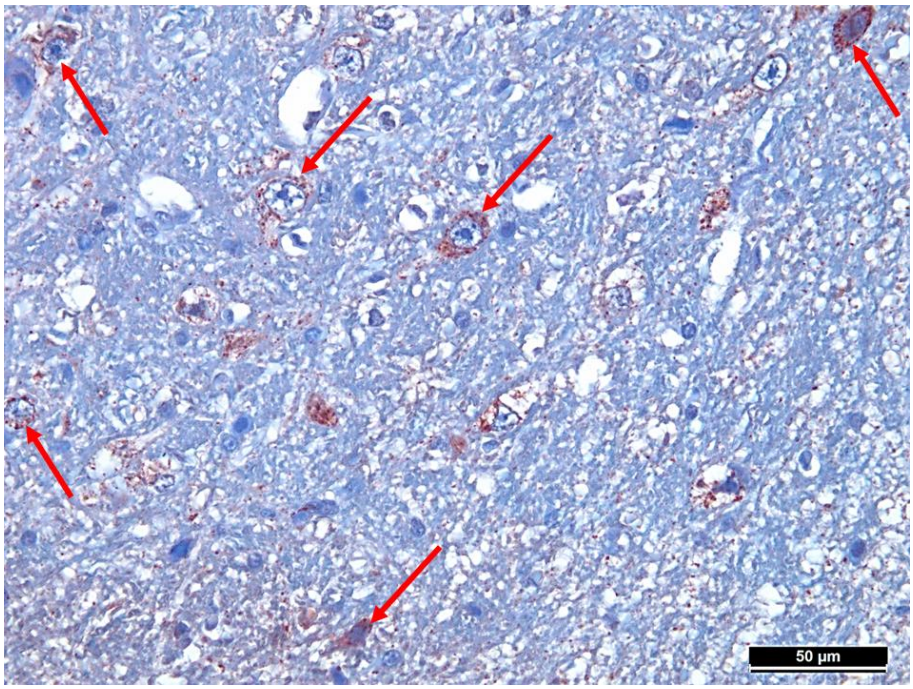
	Fosfo-PARKIN (P değeri)	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Orta beyin	0,188$^{\delta}$	-
Beyin korteksi	0,885$^{\delta}$	-
Beyincik	0,349$^{\gamma}$	-

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki fosfo-PARKIN immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.28). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin (p=0,188), beyin korteksi (p=0,885) ve beyincik (p=0,349) kesitlerindeki fosfo-PARKIN immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.29). Bu sonuçlar doğrultusunda orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki fosfo-PARKIN immün işaretlemesi açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.28 ve Çizelge 4.29).

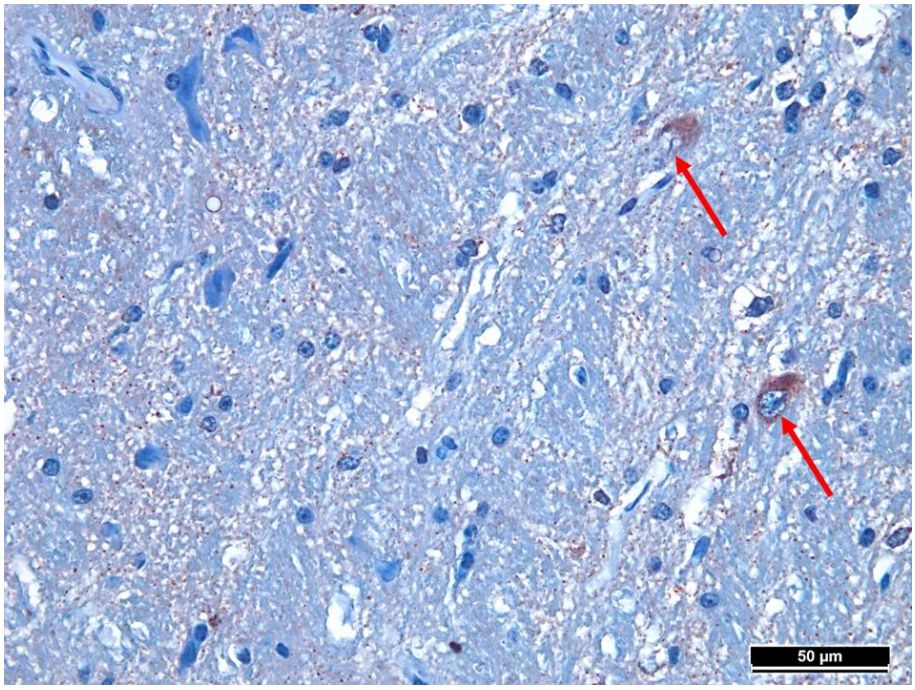
Gruplara ait orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki fosfo-PARKIN immün işaretlemelerini gösteren fotoğraflar Resim 4.73, Resim 4.74, Resim 4.75, Resim 4.76, Resim 4.77, Resim 4.78, Resim 4.79, Resim 4.80, Resim 4.81, Resim 4.82, Resim 4.83 ve Resim 4.84'te verilmiştir.



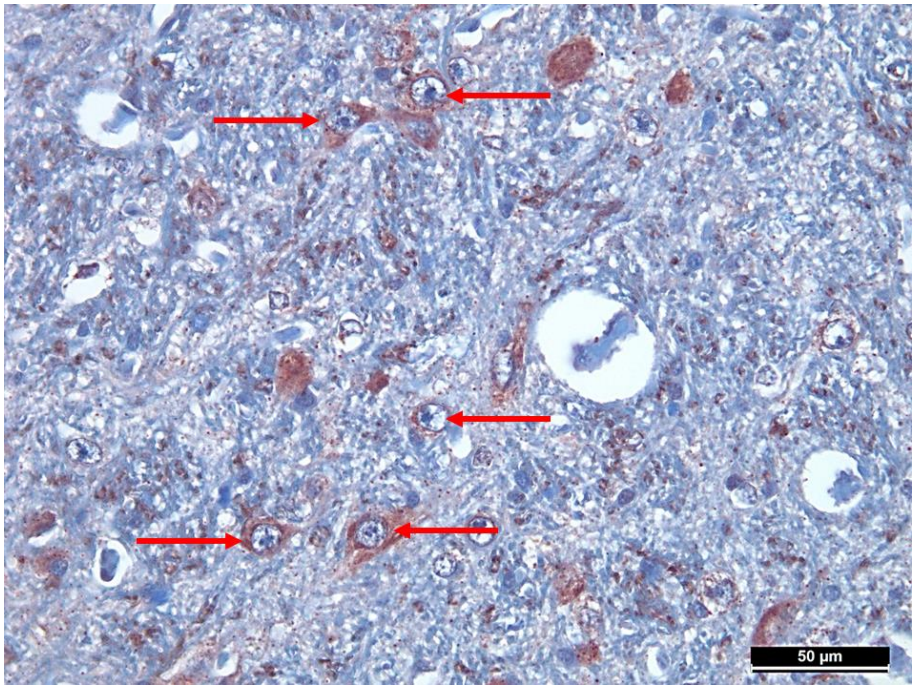
Resim 4.73. CF grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



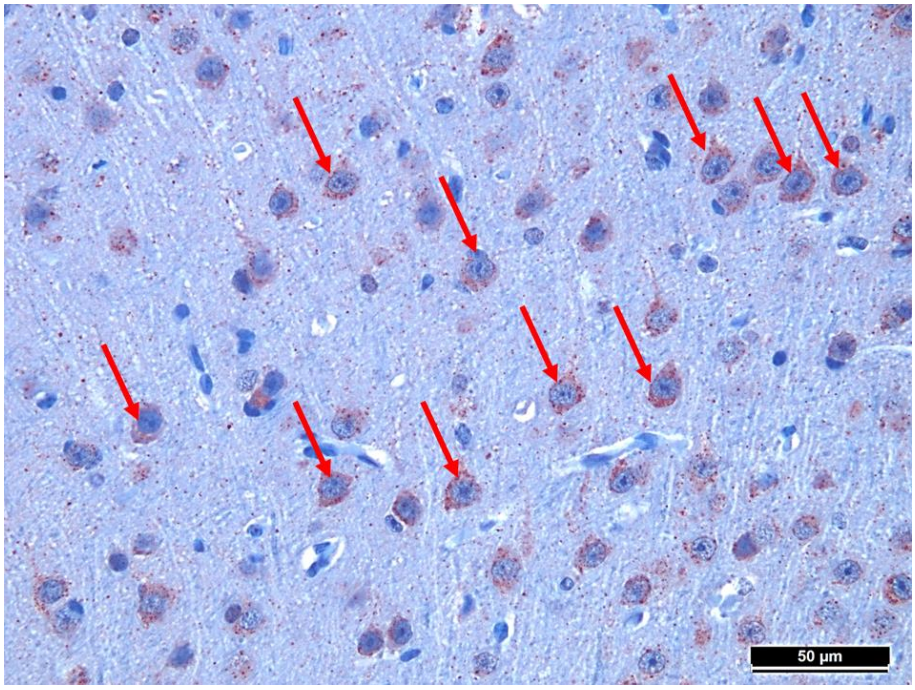
Resim 4.74. EF grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



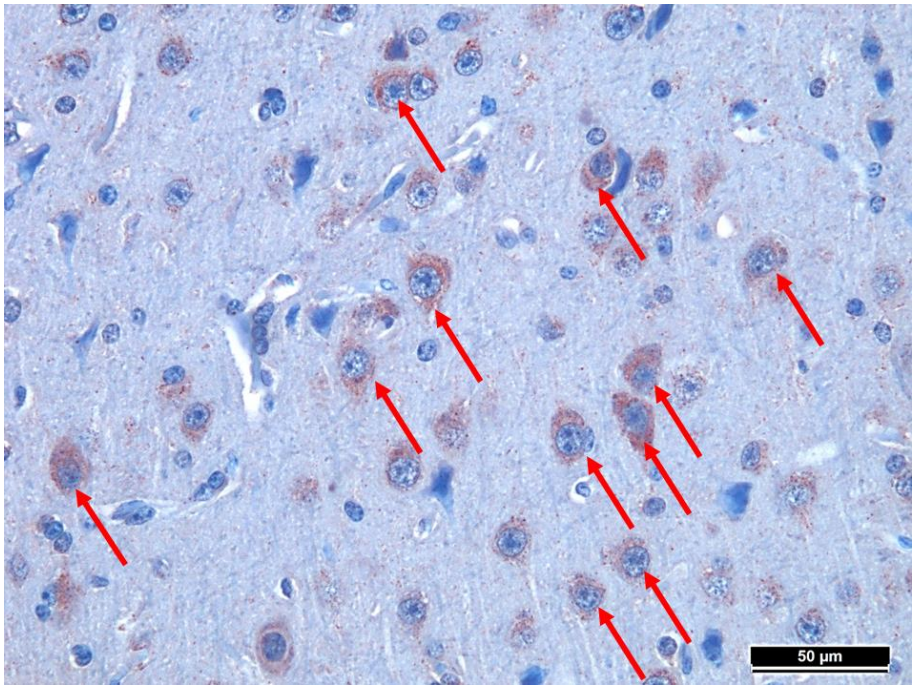
Resim 4.75. CM grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



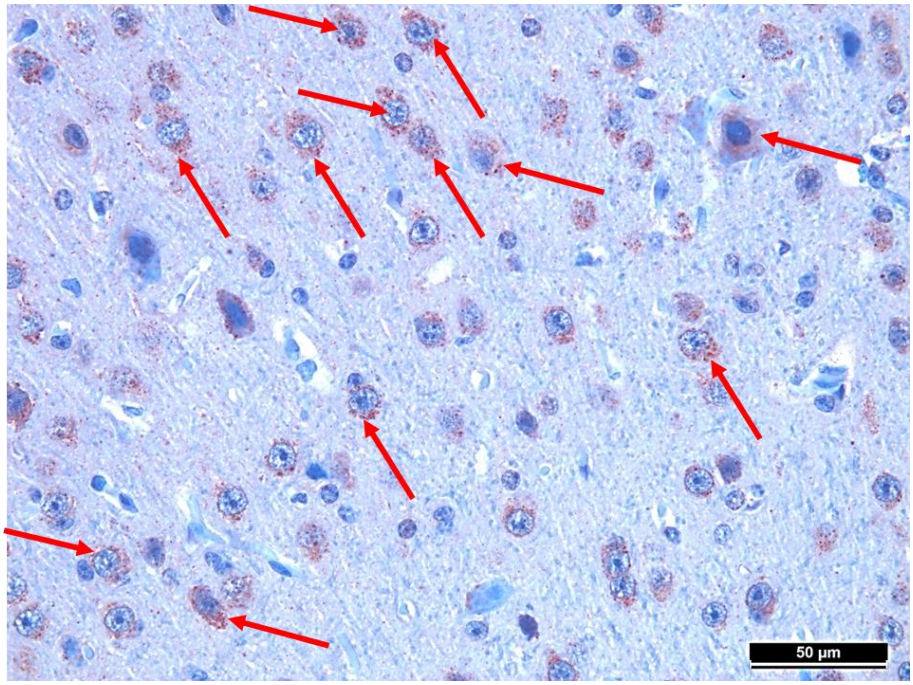
Resim 4.76. EM grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



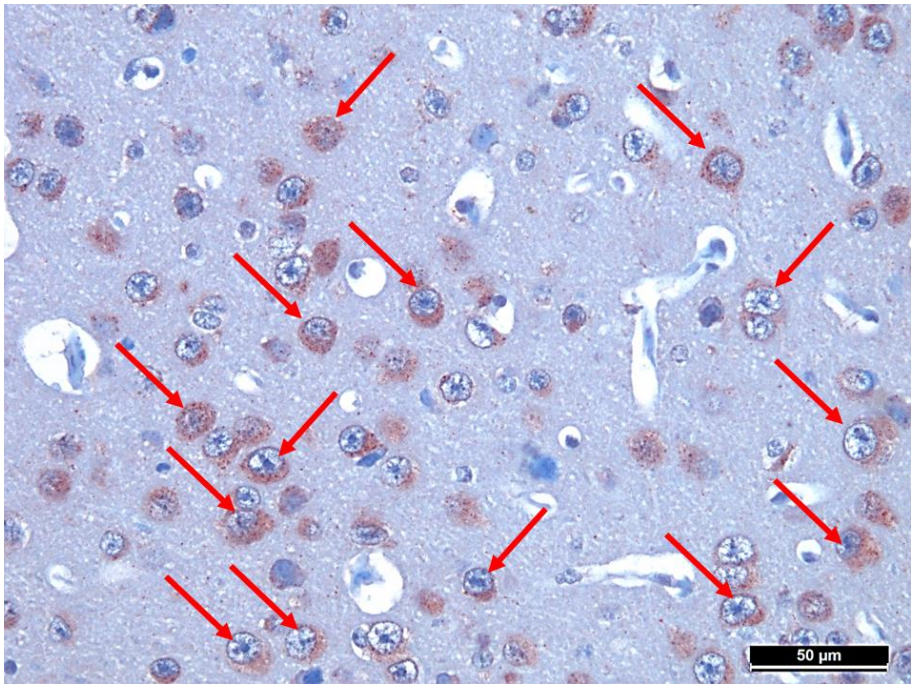
Resim 4.77. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



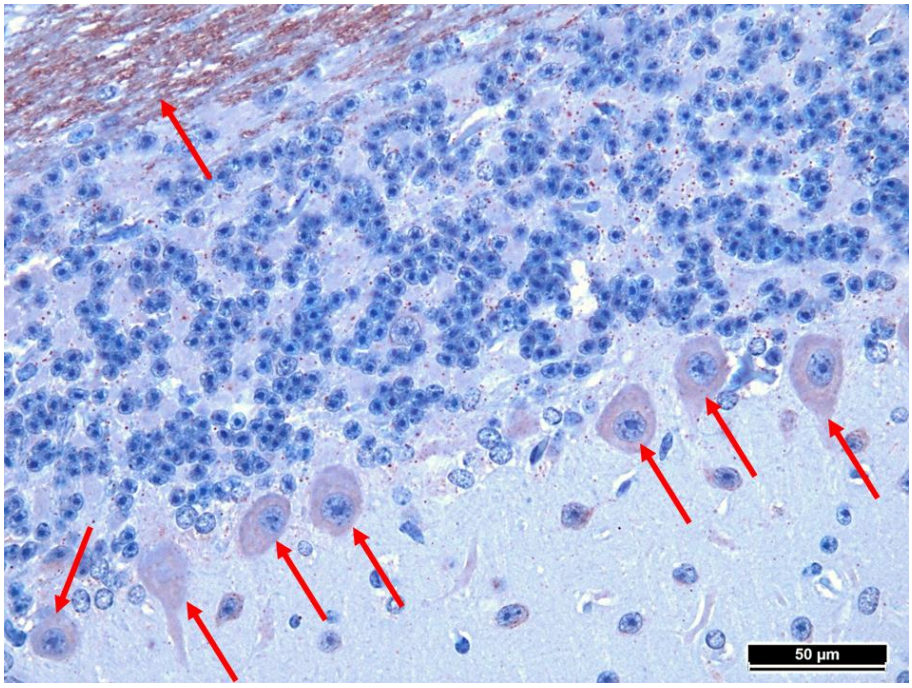
Resim 4.78. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



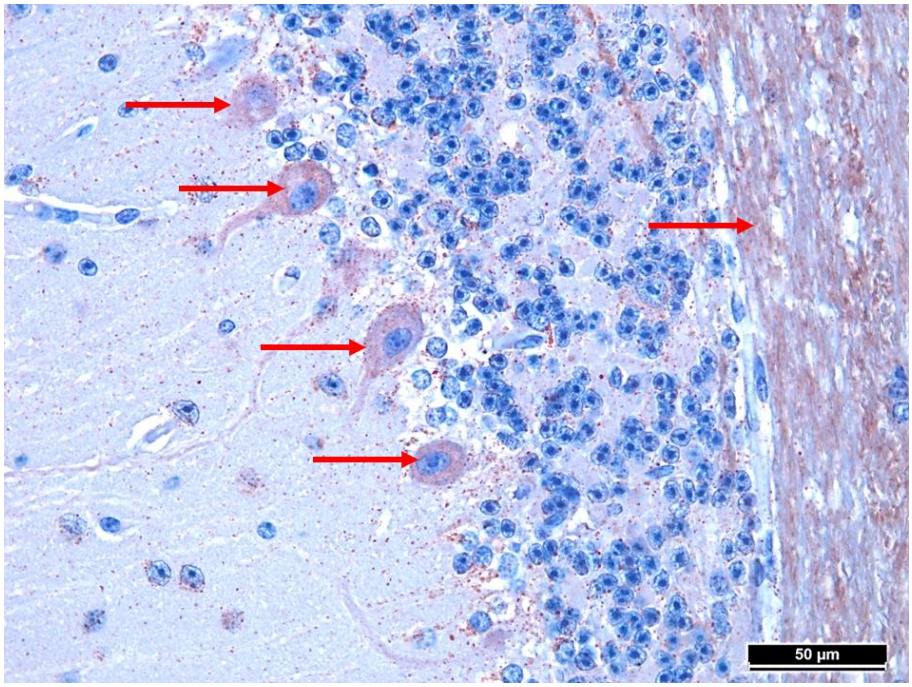
Resim 4.79. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



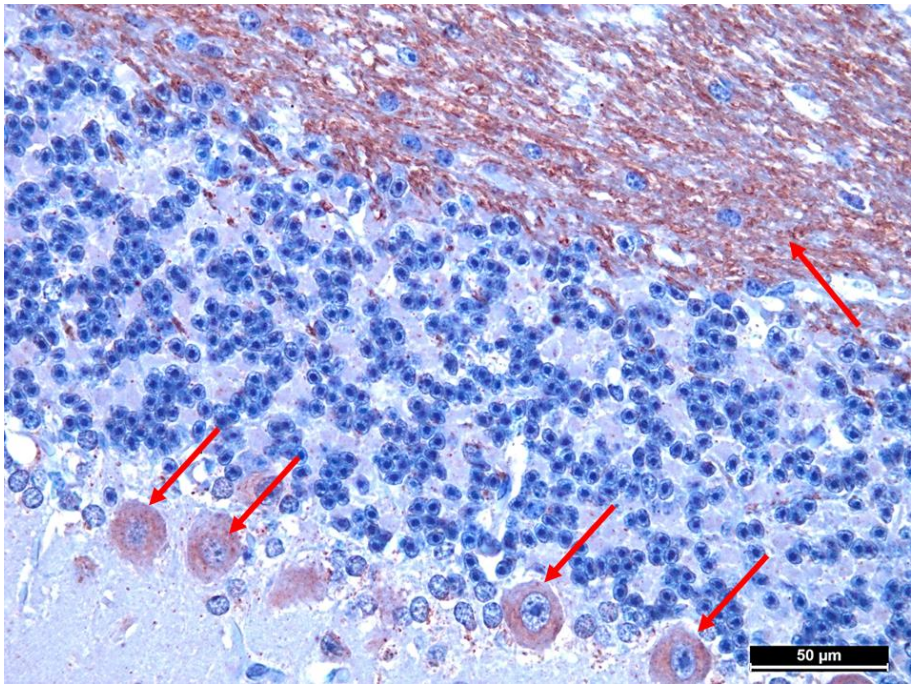
Resim 4.80. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



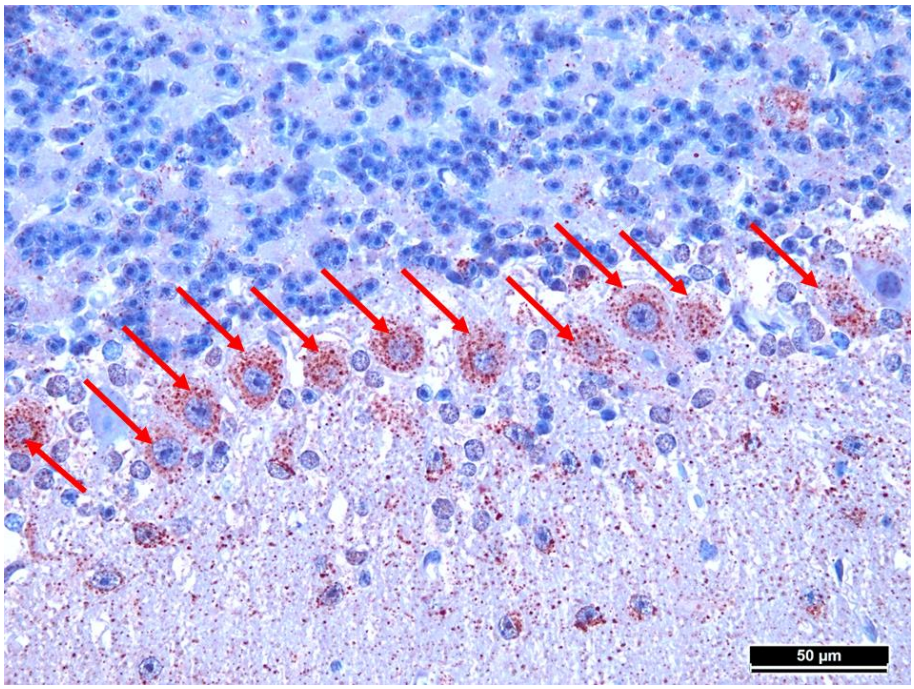
Resim 4.81. CF grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



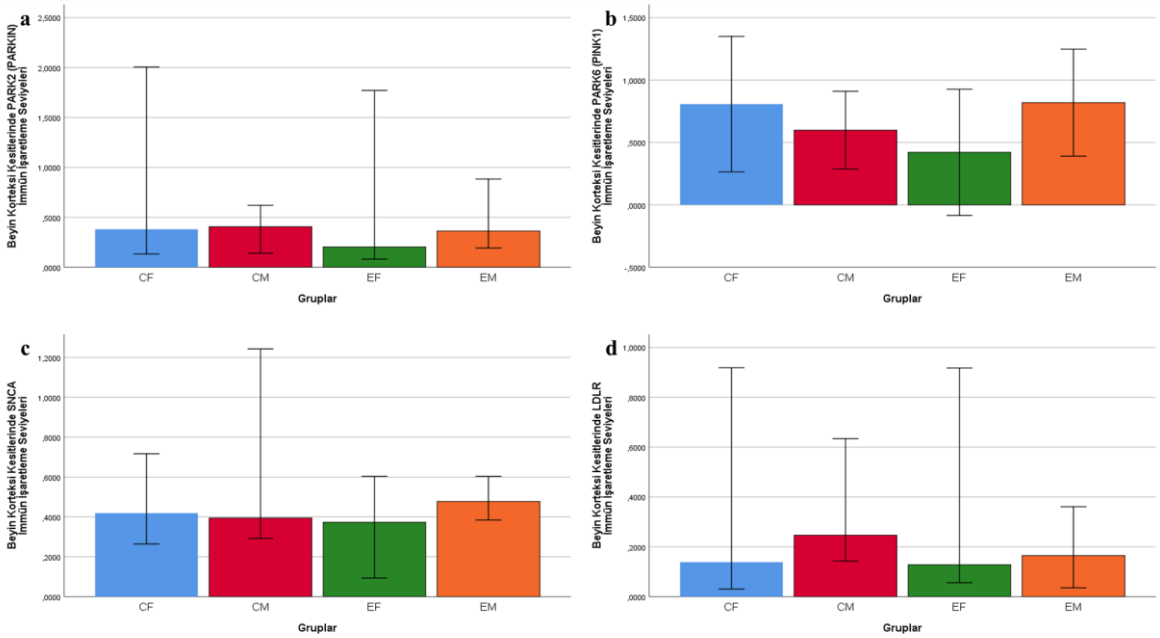
Resim 4.82. EF grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



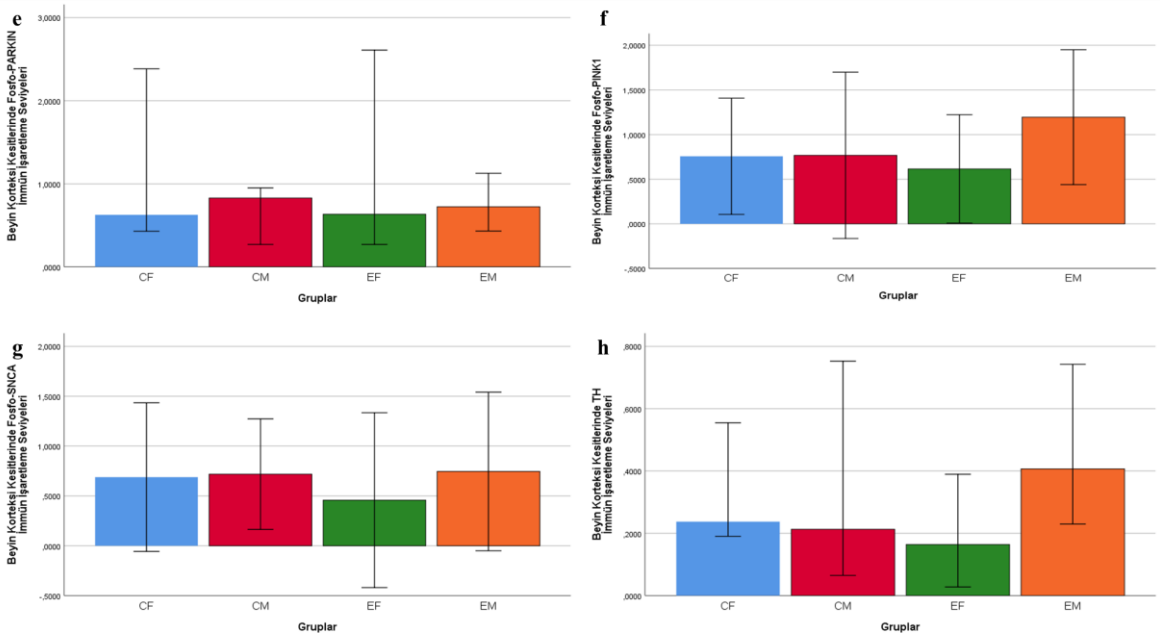
Resim 4.83. CM grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.84. EM grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PARKIN immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Şekil 4.4. Gruplara göre beyin korteksi kesitlerinde (a) PARK2 (PARKIN), (b) PARK6 (PINK1), (c) SNCA ve (d) LDLR immün işaretlemeleri



Şekil 4.5. Gruplara göre beyin korteksi kesitlerinde (e) fosfo-PARKIN, (f) fosfo-PINK1, (g) fosfo-SNCA ve (h) TH immün işaretlemeleri

4.3.6. Fosfo-PINK1 immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Fosfo-PINK1 ile immünohistokimyasal olarak işaretlenen her bir beyin (orta beyin ve beyin korteksi) ve beyincik kesitinden 400X büyütmede rastgele 6 tane alan seçildi. İmmünpozitif alanların yoğunluğu, ImageJ programı (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, Maryland, ABD) kullanılarak yüzde olarak belirlendi. Değerlendirmelerin sonunda fosfo-PINK1 immün işaretlemesi için istatistiksel veri oluşturuldu. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.30 ve Çizelge 4.31'de verilirken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin medyan değerleri Çizelge 4.32'de verilmiştir. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için bağımlı örneklem t-testi kullanılırken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için Mann-Whitney testi kullanıldı (Çizelge 4.33). Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için ANOVA kullanıldı (Çizelge 4.34). ANOVA ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı Tukey HSD yöntemi ile değerlendirildi. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı (Çizelge 4.34). Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi (Çizelge 4.34). İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.3f, Şekil 4.5f ve Şekil 4.7f'de verilmiştir.

Çizelge 4.30. Deney gruplarına göre beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-PINK1 immün işaretlemelerine ait ortalama değerler

Fosfo-PINK1 (Ortalama değer)						
Beyin korteksi	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,756	0,767	0,615	1,194	0,761	0,904
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,750	0,697	0,979	1,099	0,726	1,039

Çizelge 4.31. Deney gruplarına göre beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-PINK1 immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri

Fosfo-PINK1 (Standart sapma değeri)						
Beyin korteksi	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,325	0,465	0,303	0,377	0,373	0,445
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,234	0,484	0,409	0,276	0,349	0,338

Çizelge 4.32. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde fosfo-PINK1 immün işaretlemelerine ait medyan değerleri

Fosfo-PINK1 (Medyan değeri)						
Orta beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	1,010	0,724	1,351	1,473	0,818	1,459

Çizelge 4.33. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-PINK1 immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) α: Bağımlı örneklem t-testi, β: Mann-Whitney testi

	Fosfo-PINK1 (P değeri)		
	Orta beyin	Beyin korteksi	Beyincik
CF / CM	$0,429^{\beta}$	$0,965^{\alpha}$	$0,817^{\alpha}$
CF / EF	$0,485^{\beta}$	$0,454^{\alpha}$	$0,269^{\alpha}$
CF / EM	$\mathbf{0,004^{\beta}}$	$0,057^{\alpha}$	$\mathbf{0,040^{\alpha}}$
CM / EF	$0,177^{\beta}$	$0,529^{\alpha}$	$0,322^{\alpha}$
CM / EM	$\mathbf{0,017^{\beta}}$	$0,127^{\alpha}$	$0,117^{\alpha}$
EF / EM	$0,394^{\beta}$	$\mathbf{0,015^{\alpha}}$	$0,566^{\alpha}$
CG / EG	$\mathbf{0,007^{\beta}}$	$0,415^{\alpha}$	$\mathbf{0,041^{\alpha}}$

Çizelge 4.34. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-PINK1 immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) γ: ANOVA, δ: Kruskal-Wallis testi

	Fosfo-PINK1 (P değeri)	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Orta beyin	**0,031**$^{\delta}$	-
Beyin korteksi	0,070$^{\gamma}$	-
Beyincik	0,224$^{\gamma}$	-

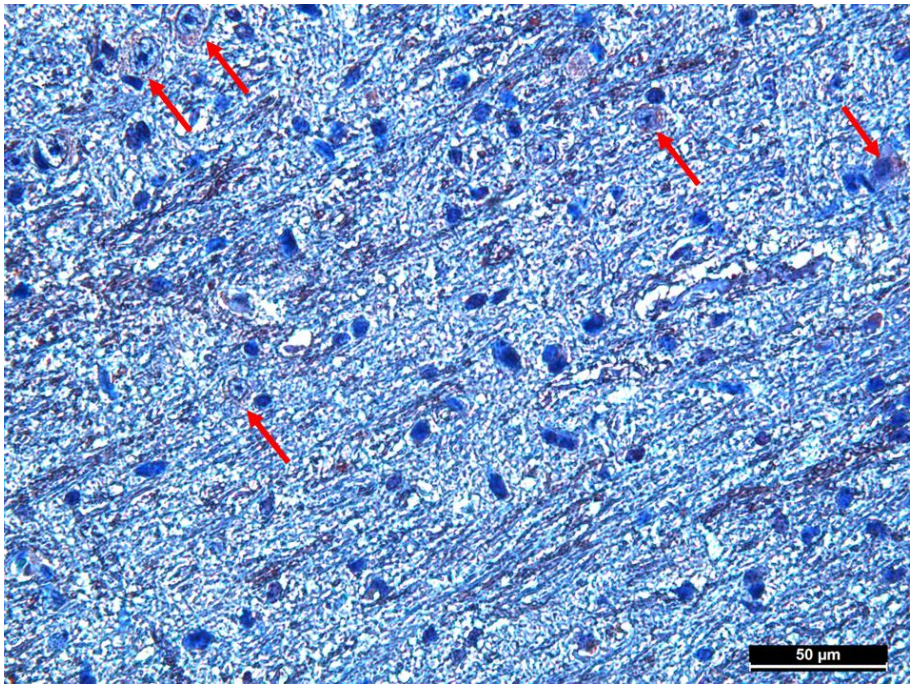
Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemesi açısından CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,004**) ve CM kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,017**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ayrıca kontrol grubu (CG) ile deney grubu (EG) (**p=0,007**) arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.33). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (**p=0,031**) (Çizelge 4.34). Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu için farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi; ancak Bonferroni düzelmesi nedeniyle aralarında anlamlı fark bulunan gruplar tespit edilemedi (Çizelge 4.34). İkili karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda orta beyin kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemesinin hem CF ve CM kontrol gruplarına göre EM deney grubunda hem de kontrol grubuna (CG) göre deney grubunda (EG) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.33). İkili ve çoklu karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda orta beyin kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemesinin kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadığı belirlendi (Çizelge 4.33 ve Çizelge 4.34).

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyin korteksi kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemesi açısından EF deney grubu ile EM deney grubu (**p=0,015**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.33). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyin korteksi kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,070) (Çizelge 4.34). İkili karşılaştırmalar doğrultusunda beyin korteksi kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemesinin EF deney

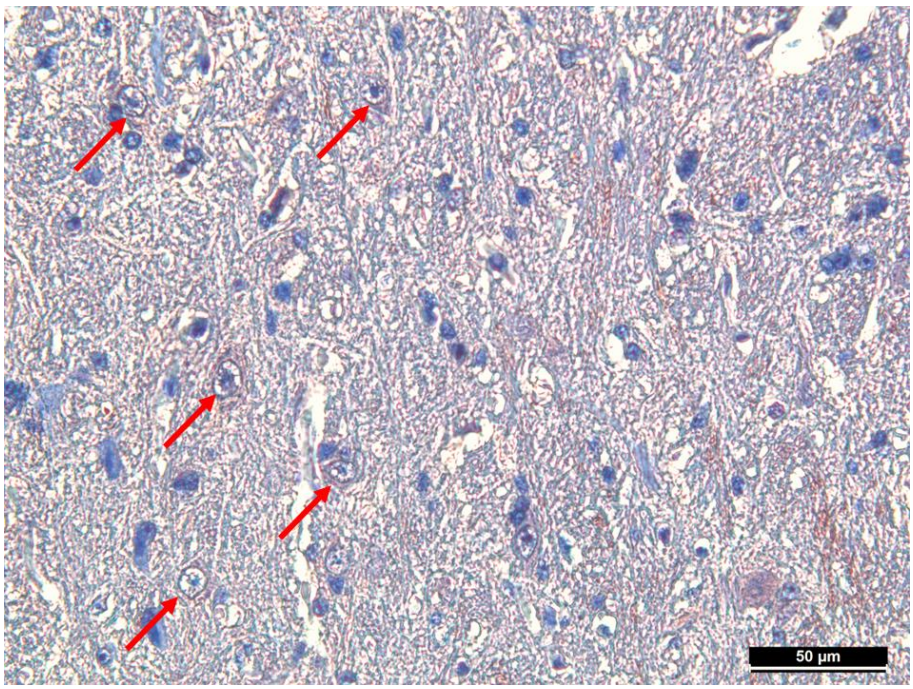
grubuna göre EM deney grubunda arttığı tespit edildi (Çizelge 4.33). Hem ikili hem de çoklu karşılaştırmalarla beyin korteksi kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemesinin kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadığı belirlendi (Çizelge 4.33 ve Çizelge 4.34).

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyincik kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemesi açısından CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,040**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ayrıca kontrol grubu (CG) ile deney grubu (EG) (**p=0,041**) arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.33). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyincik kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,224) (Çizelge 4.34). İkili karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda beyincik kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemesinin hem CF kontrol grubuna göre EM deney grubunda hem de kontrol grubuna (CG) göre deney grubunda (EG) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.33). İkili ve çoklu karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda beyincik kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemesinin kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadığı belirlendi (Çizelge 4.33 ve Çizelge 4.34).

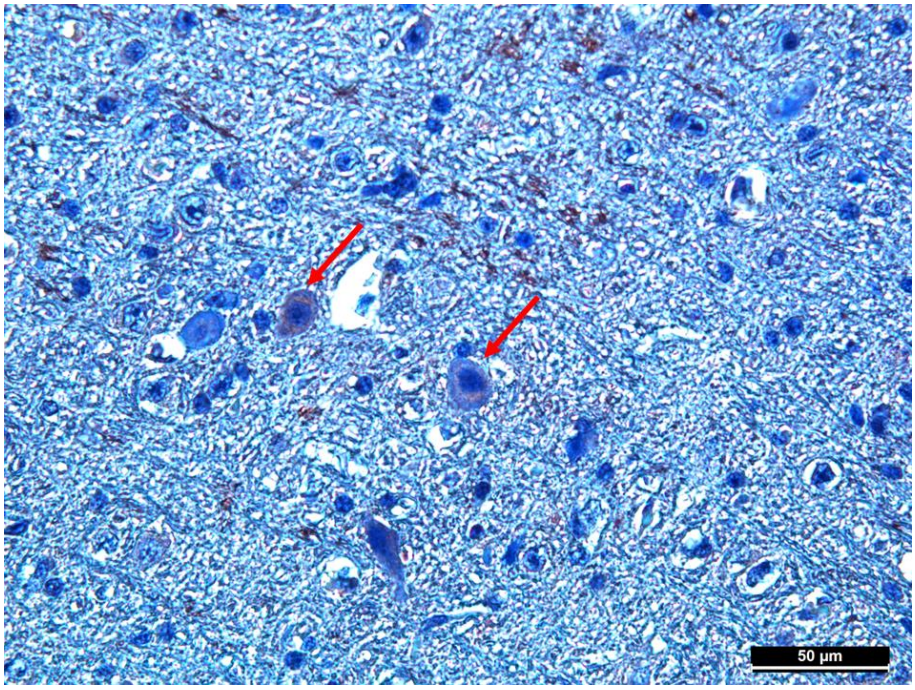
Gruplara ait orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki fosfo-PINK1 immün işaretlemelerini gösteren fotoğraflar Resim 4.85, Resim 4.86, Resim 4.87, Resim 4.88, Resim 4.89, Resim 4.90, Resim 4.91, Resim 4.92, Resim 4.93, Resim 4.94, Resim 4.95 ve Resim 4.96’da verilmiştir.



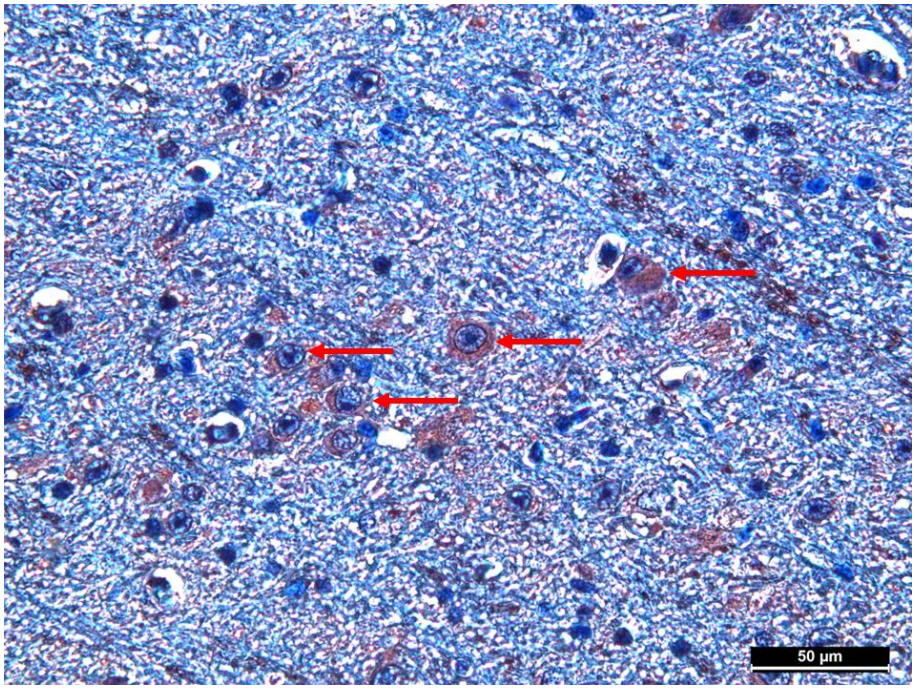
Resim 4.85. CF grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



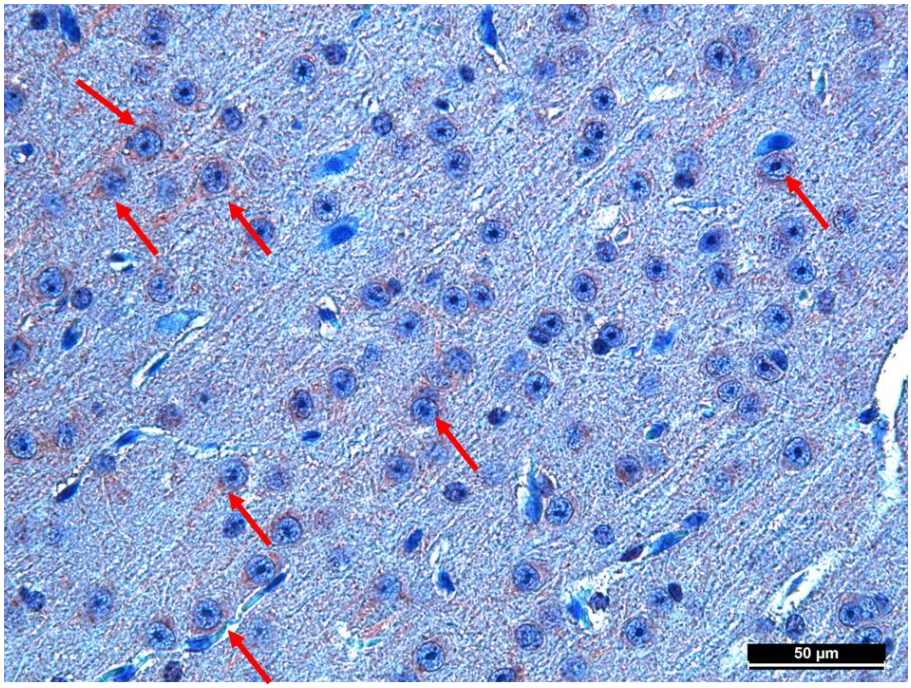
Resim 4.86. EF grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



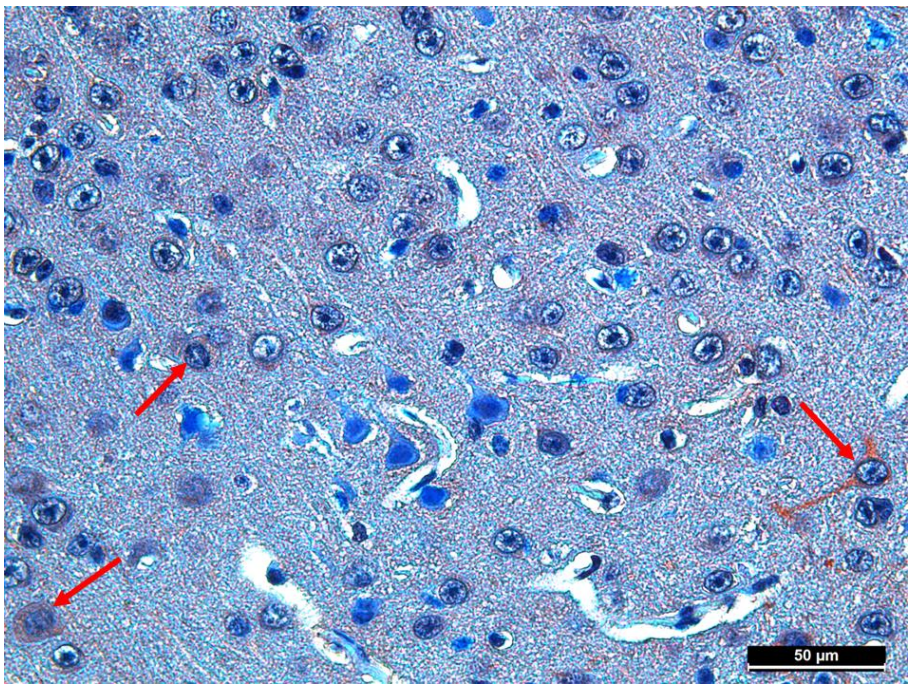
Resim 4.87. CM grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



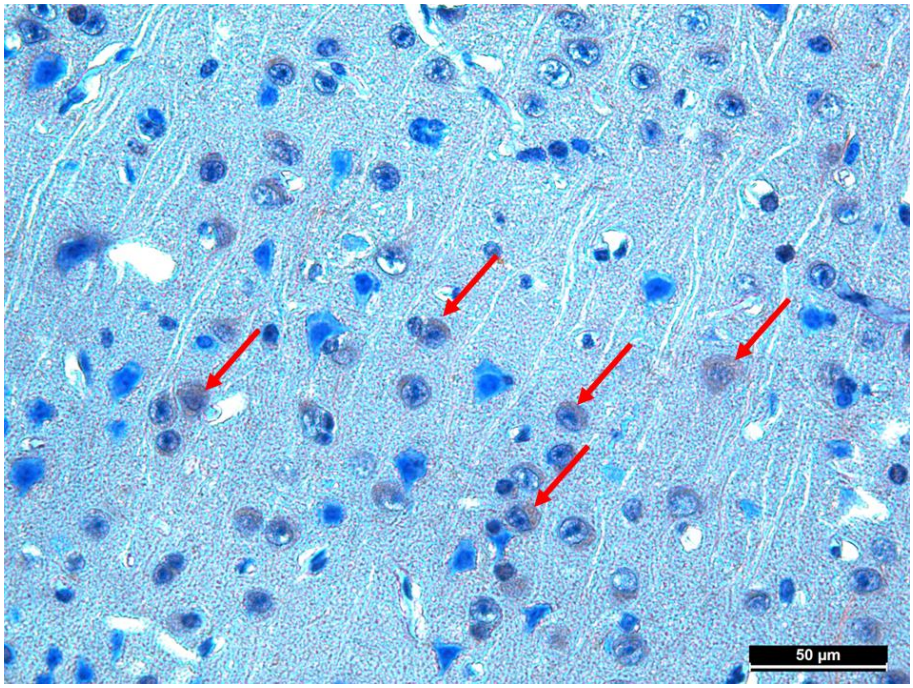
Resim 4.88. EM grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



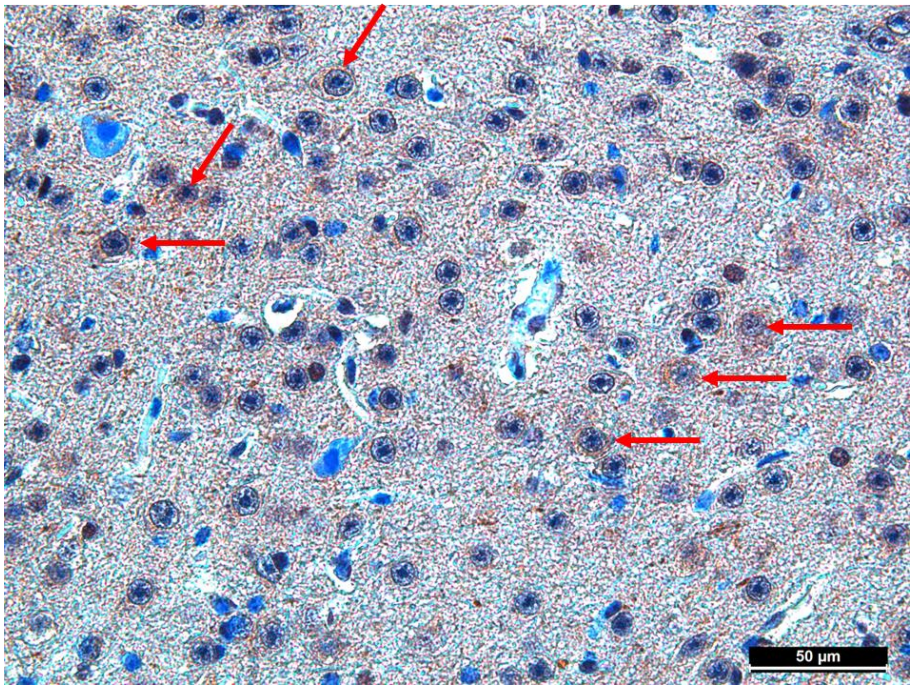
Resim 4.89. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



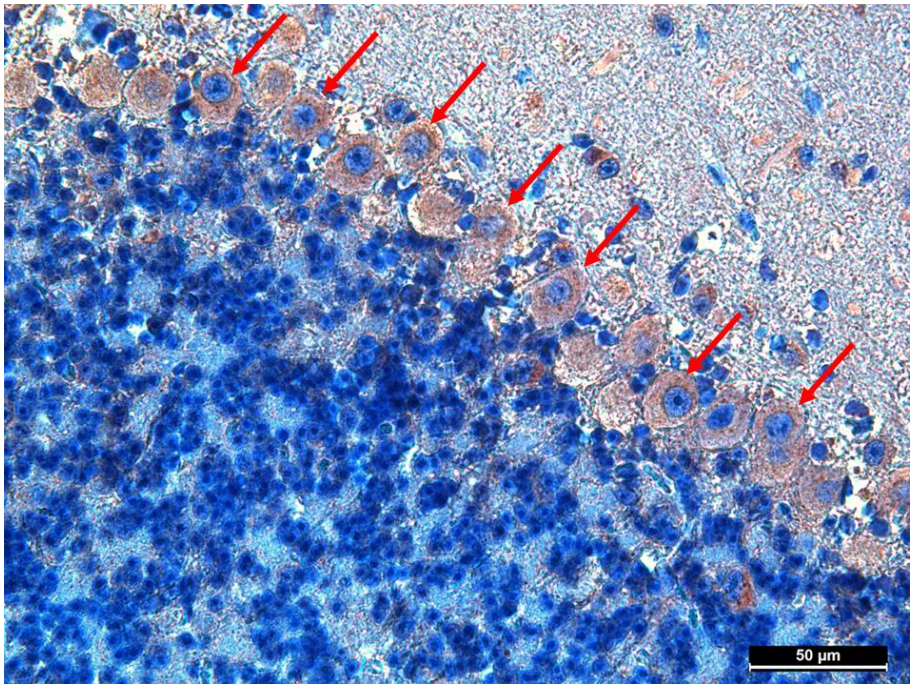
Resim 4.90. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



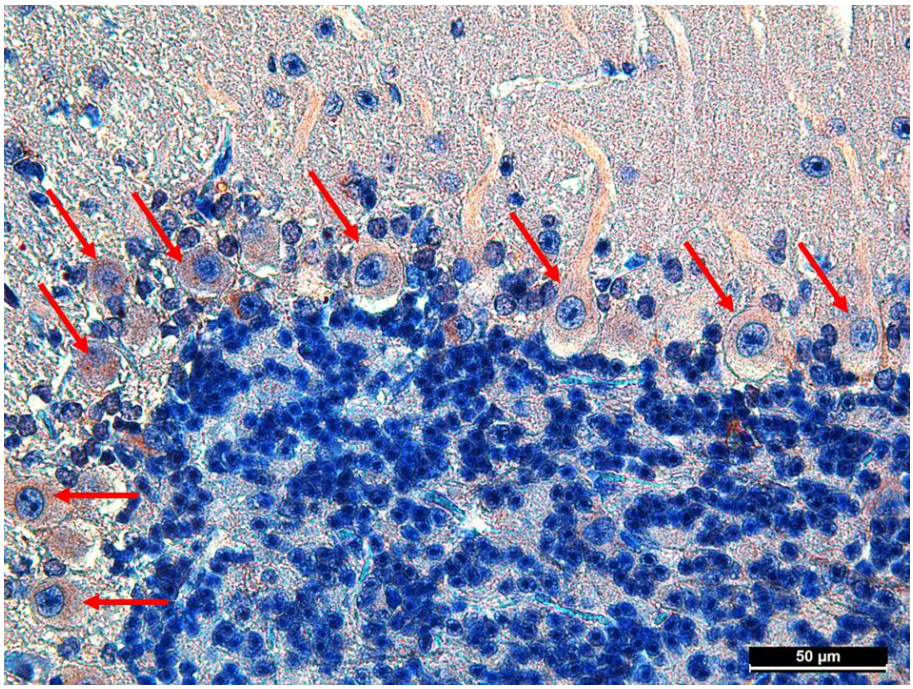
Resim 4.91. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



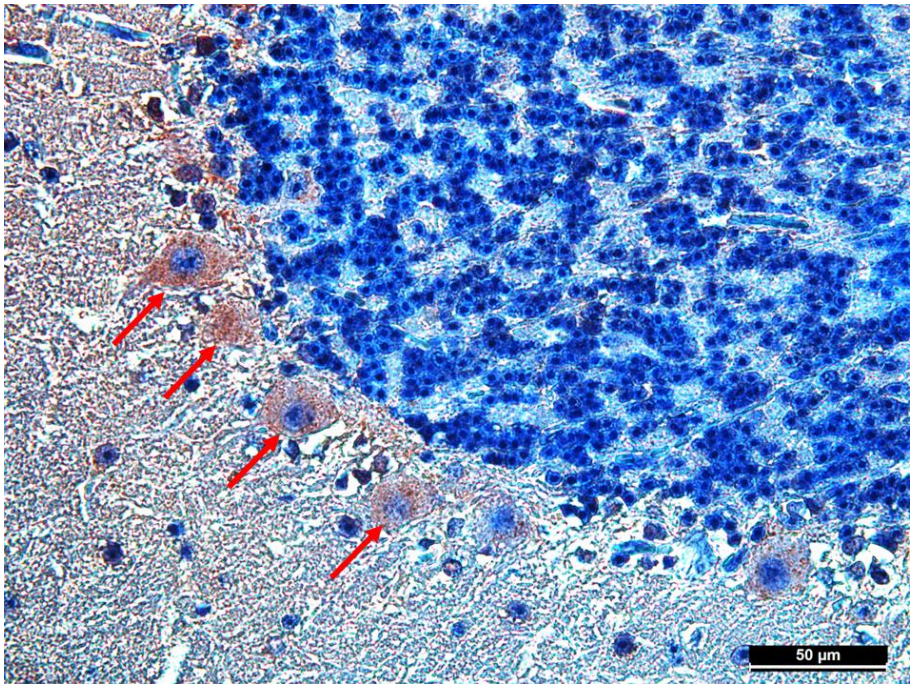
Resim 4.92. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



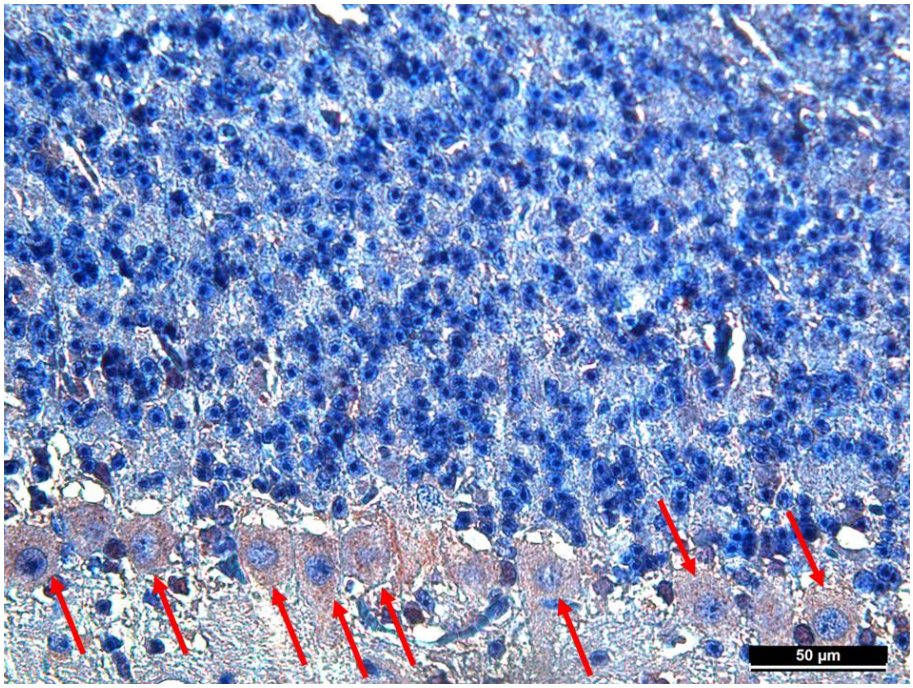
Resim 4.93. CF grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.94. EF grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.95. CM grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.96. EM grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-PINK1 immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)

4.3.7. Fosfo-SNCA immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Fosfo-SNCA ile immünohistokimyasal olarak işaretlenen her bir beyin (orta beyin ve beyin korteksi) ve beyincik kesitinden 400X büyütmede rastgele 6 tane alan seçildi. İmmünpozitif alanların yoğunluğu, ImageJ programı (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, Maryland, ABD) kullanılarak yüzde olarak belirlendi. Değerlendirmelerin sonunda fosfo-SNCA immün işaretlemesi için istatistiksel veri oluşturuldu. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.35 ve Çizelge 4.36'da verilmiştir. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için bağımlı örneklem t-testi kullanıldı (Çizelge 4.37). Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için ANOVA kullanıldı (Çizelge 4.38). ANOVA ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı Tukey HSD yöntemi ile değerlendirildi (Çizelge 4.38). İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki fosfo-SNCA immün işaretlemelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.3g, Şekil 4.5g ve Şekil 4.7g'de verilmiştir.

Çizelge 4.35. Deney gruplarına göre orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-SNCA immün işaretlemelerine ait ortalama değerler

Fosfo-SNCA (Ortalama değer)						
Orta beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,893	0,504	2,070	1,155	0,716	1,612
Beyin korteksi	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,688	0,717	0,457	0,745	0,701	0,601
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,461	0,698	0,466	0,834	0,569	0,650

Çizelge 4.36. Deney gruplarına göre orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-SNCA immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri

Fosfo-SNCA (Standart sapma değeri)						
Orta beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,443	0,382	0,517	0,477	0,444	0,673
Beyin korteksi	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,372	0,277	0,438	0,397	0,317	0,426
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,148	0,314	0,286	0,265	0,256	0,325

Çizelge 4.37. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-SNCA immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) α: Bağımlı örneklem t-testi

	Fosfo-SNCA (P değeri)		
	Orta beyin	Beyin korteksi	Beyincik
CF / CM	$0,158^{\alpha}$	$0,888^{\alpha}$	$0,178^{\alpha}$
CF / EF	$\mathbf{0,002^{\alpha}}$	$0,349^{\alpha}$	$0,969^{\alpha}$
CF / EM	$0,348^{\alpha}$	$0,804^{\alpha}$	$\mathbf{0,013^{\alpha}}$
CM / EF	$\mathbf{0,000^{\alpha}}$	$0,282^{\alpha}$	$0,233^{\alpha}$
CM / EM	$\mathbf{0,036^{\alpha}}$	$0,899^{\alpha}$	$0,454^{\alpha}$
EF / EM	$\mathbf{0,010^{\alpha}}$	$0,261^{\alpha}$	$\mathbf{0,043^{\alpha}}$
CG / EG	$\mathbf{0,001^{\alpha}}$	$0,532^{\alpha}$	$0,514^{\alpha}$

Çizelge 4.38. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde fosfo-SNCA immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) γ: ANOVA

	Fosfo-SNCA (P değeri)	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Orta beyin	**0,000**$^{\gamma}$	CF / EF (Tukey HSD, **p=0,002**) CM / EF (Tukey HSD, **p=0,000**) EF / EM (Tukey HSD, **p=0,013**)
Beyin korteksi	0,558$^{\gamma}$	-
Beyincik	0,057$^{\gamma}$	-

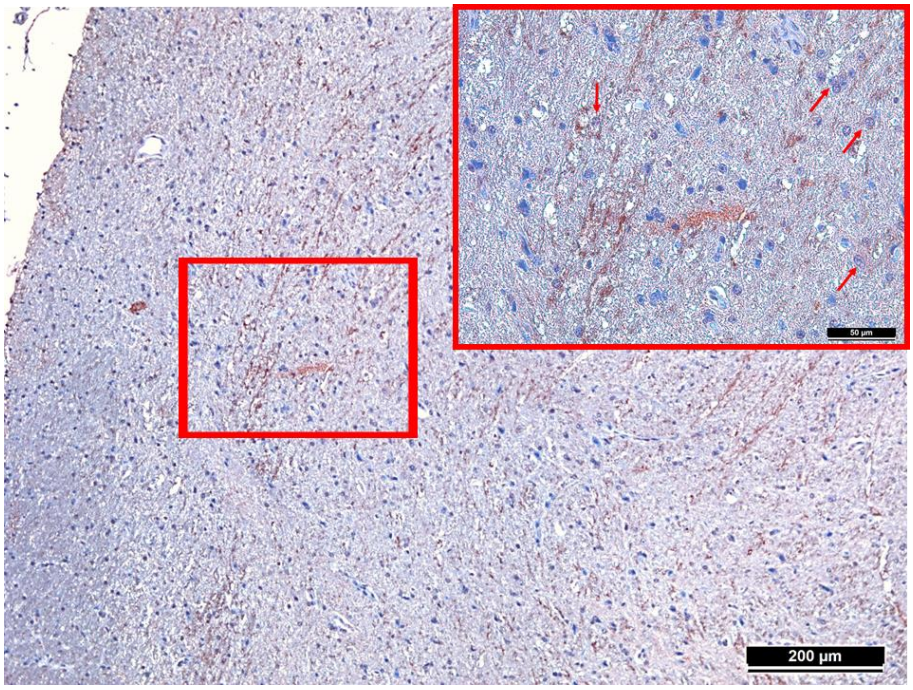
Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin kesitlerindeki fosfo-SNCA immün işaretlemesi açısından CF kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,002**), CM kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,000**), CM kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,036**) ve EF deney grubu ile EM deney grubu (**p=0,010**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ayrıca kontrol grubu (CG) ile deney grubu (EG) (**p=0,001**) arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (Çizelge 4.37). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin kesitlerindeki fosfo-SNCA immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p=0,000**) (Çizelge 4.38). Bu durumun CF kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,002**), CM kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,000**) ve EF deney grubu ile EM deney grubu (**p=0,013**) arasındaki anlamlı farklardan kaynaklandığı tespit edildi (Çizelge 4.38). İkili karşılaştırmalar doğrultusunda orta beyin kesitlerinde fosfo-SNCA immün işaretlemesinin hem CM kontrol grubuna göre EM deney grubunda hem de kontrol grubuna (CG) göre deney grubunda (EG) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.37). Hem ikili hem de çoklu karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda orta beyin kesitlerinde fosfo-SNCA immün işaretlemesinin CF ve CM kontrol gruplarına göre EF deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi (Çizelge 4.37 ve Çizelge 4.38).

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyin korteksi kesitlerindeki fosfo-SNCA immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.37). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyin korteksi kesitlerindeki fosfo-SNCA immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,558) (Çizelge 4.38). Bu sonuçlar doğrultusunda

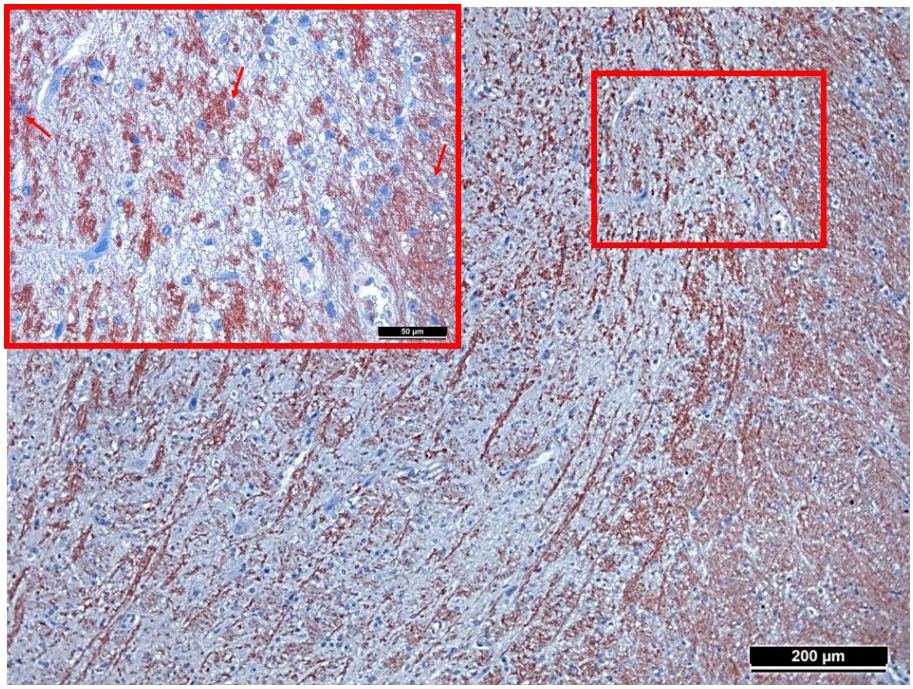
beyin korteksi kesitlerindeki fosfo-SNCA immün işaretlemesi açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.37 ve Çizelge 4.38).

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyincik kesitlerindeki fosfo-SNCA immün işaretlemesi açısından CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,013**) ve EF deney grubu ile EM deney grubu (**p=0,043**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.37). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyincik kesitlerindeki fosfo-SNCA immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,057) (Çizelge 4.38). İkili karşılaştırmalar doğrultusunda beyincik kesitlerinde fosfo-SNCA immün işaretlemesinin CF kontrol grubu ve EF deney grubuna göre EM deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.37). İkili ve çoklu karşılaştırmalar doğrultusunda beyincik kesitlerindeki fosfo-SNCA immün işaretlemesi açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.37 ve Çizelge 4.38).

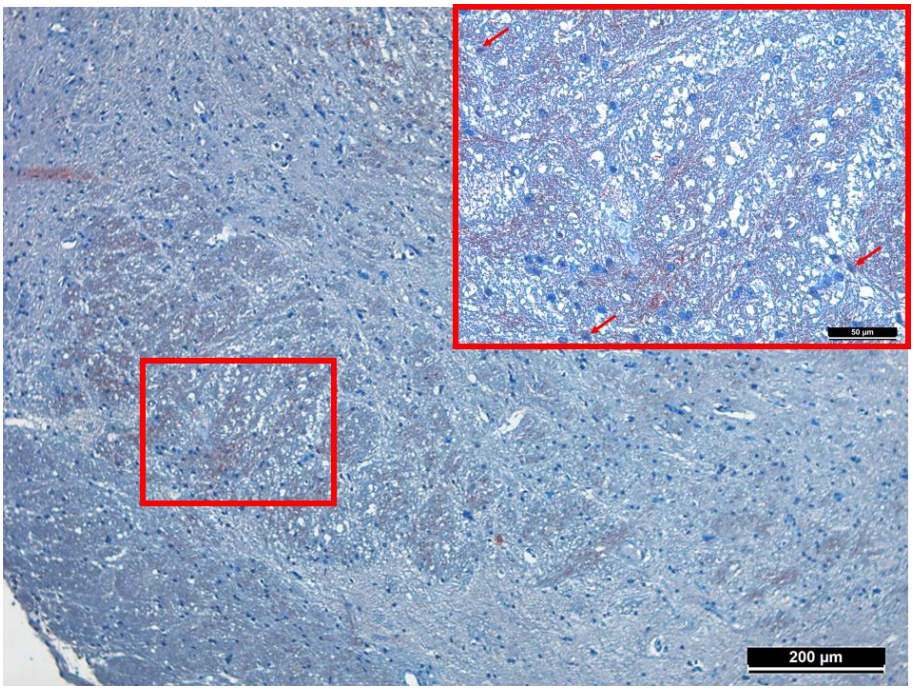
Gruplara ait orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki fosfo-SNCA immün işaretlemelerini gösteren fotoğraflar Resim 4.97, Resim 4.98, Resim 4.99, Resim 4.100, Resim 4.101, Resim 4.102, Resim 4.103, Resim 4.104, Resim 4.105, Resim 4.106, Resim 4.107 ve Resim 4.108’de verilmiştir.



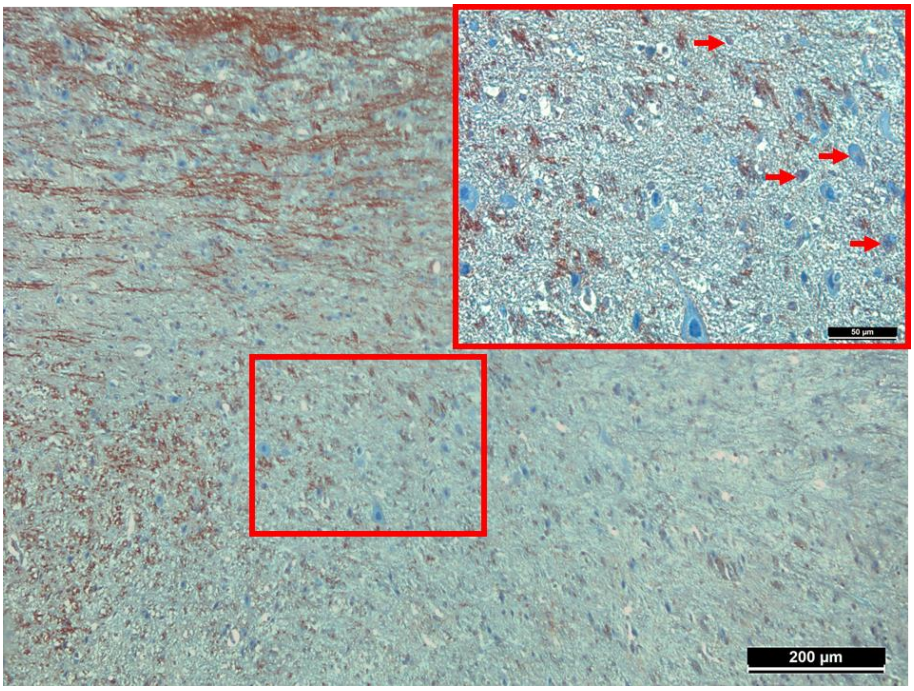
Resim 4.97. CF grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (küçük resim X400, büyük resim X100)



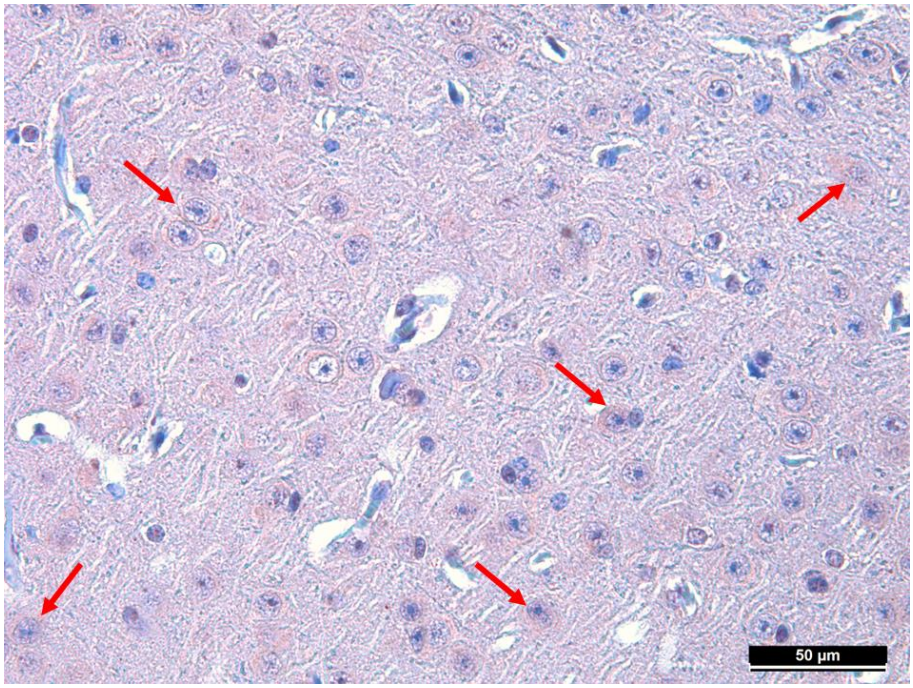
Resim 4.98. EF grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (küçük resim X400, büyük resim X100)



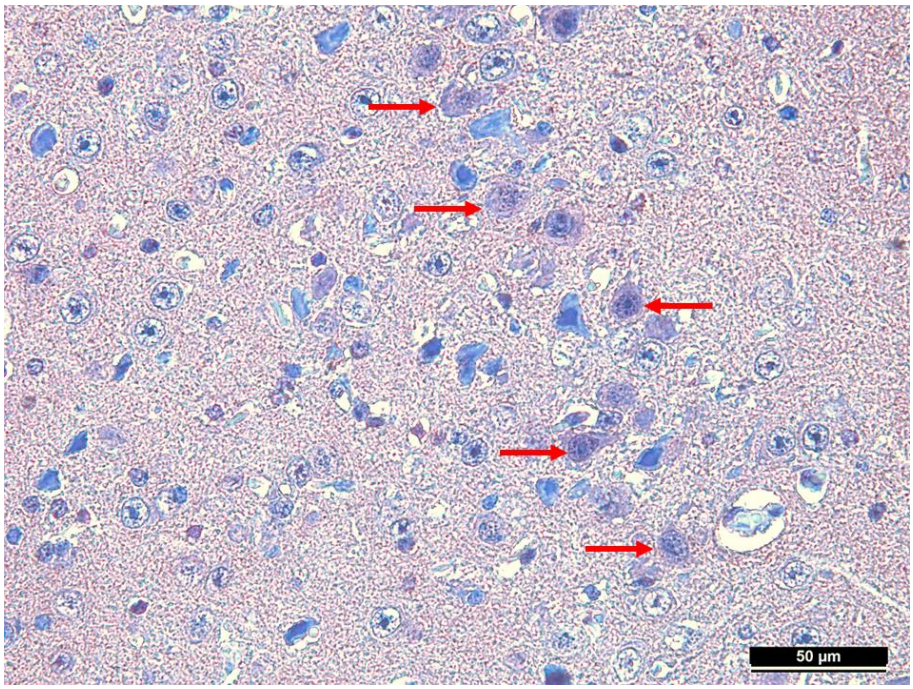
Resim 4.99. CM grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (küçük resim X400, büyük resim X100)



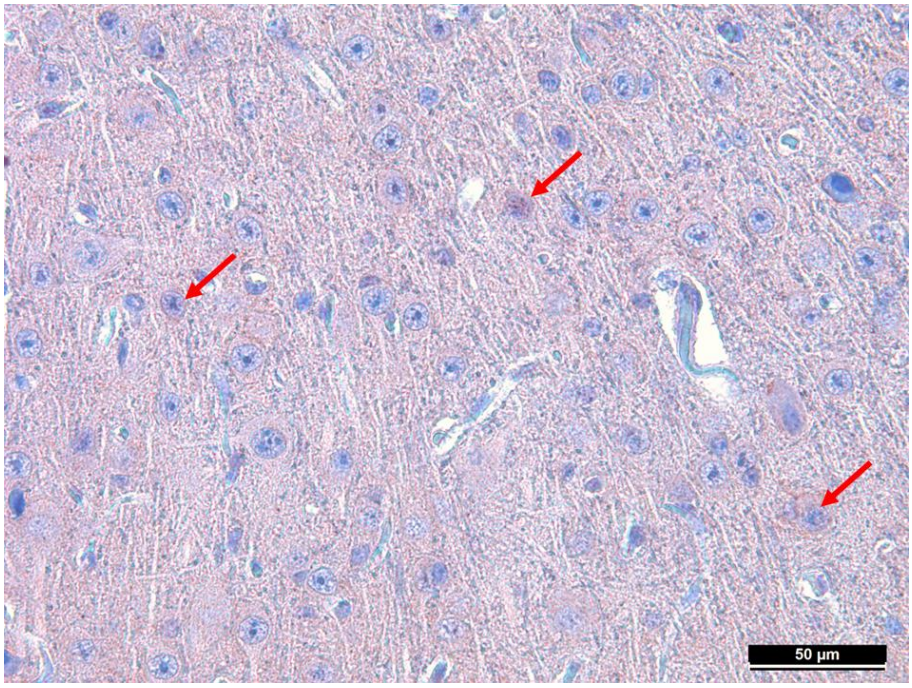
Resim 4.100. EM grubuna ait orta beyin kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (küçük resim X400, büyük resim X100)



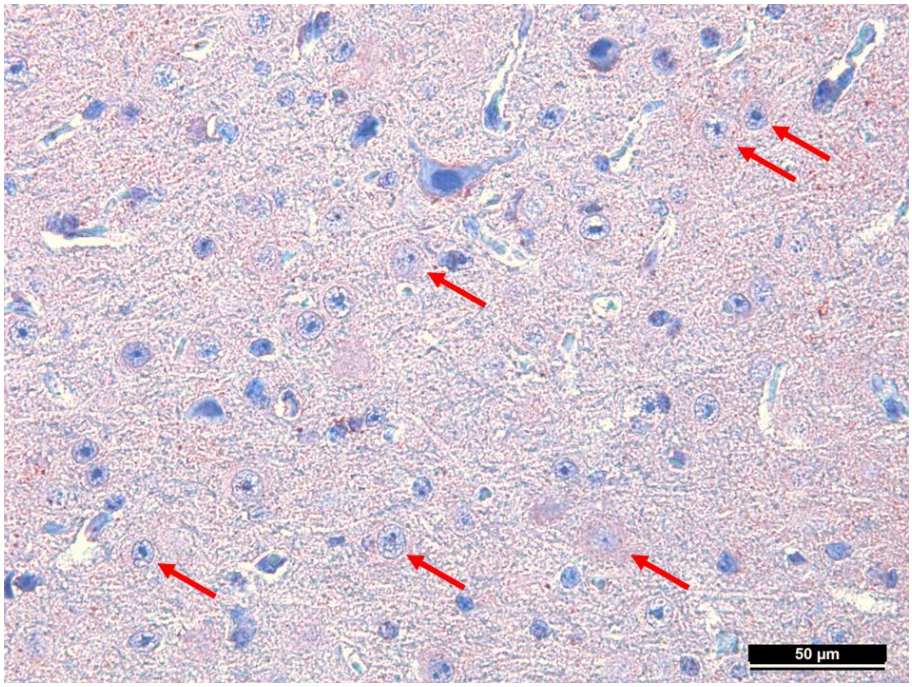
Resim 4.101. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



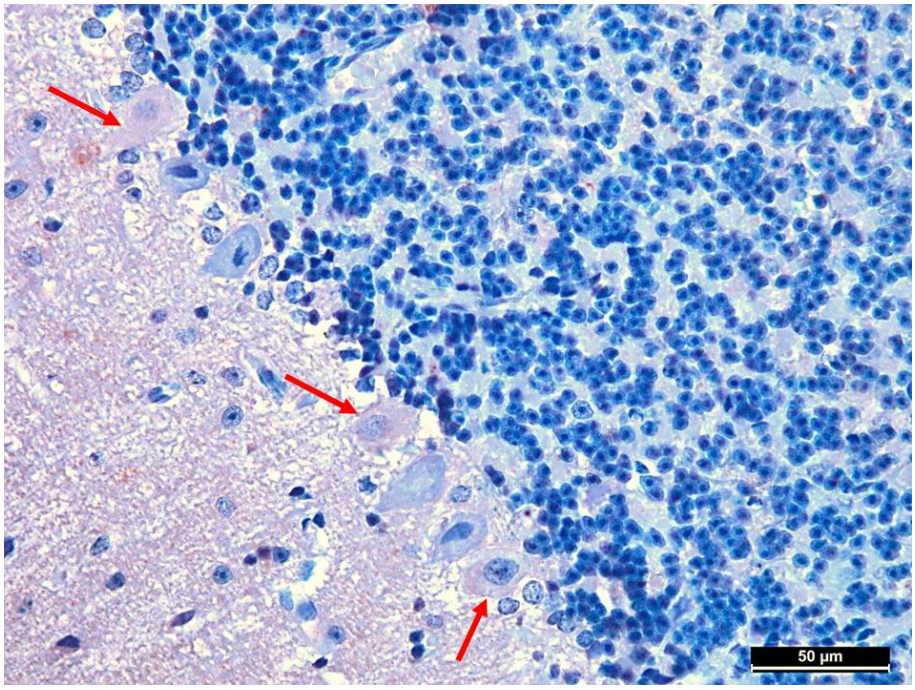
Resim 4.102. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



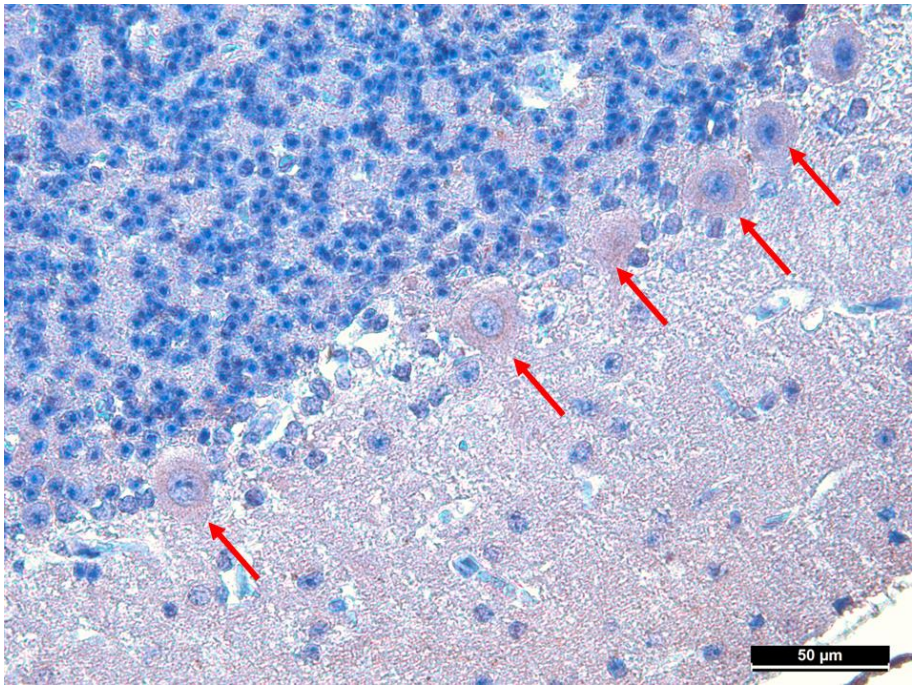
Resim 4.103. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



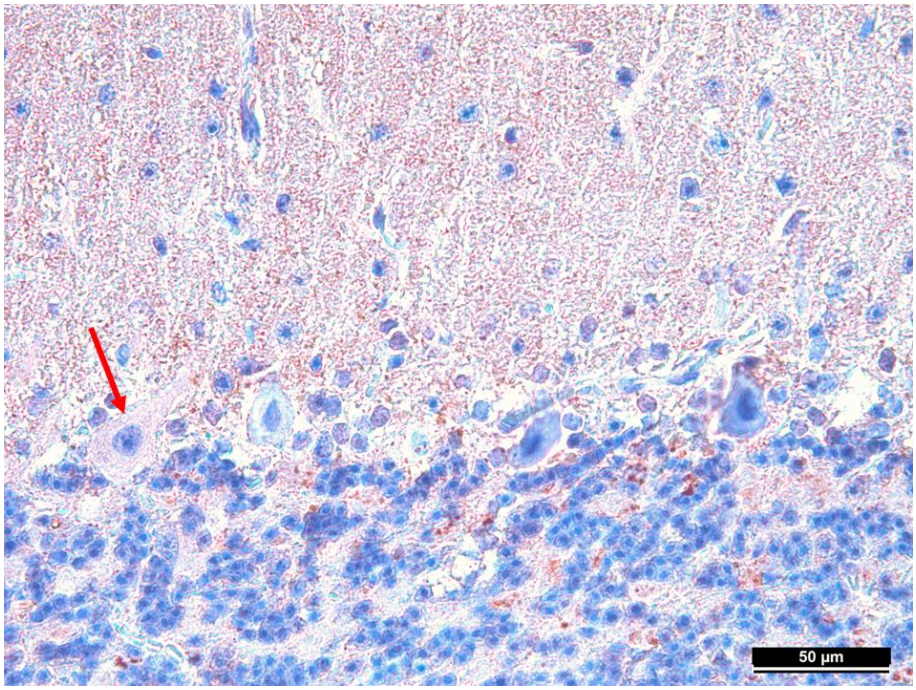
Resim 4.104. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



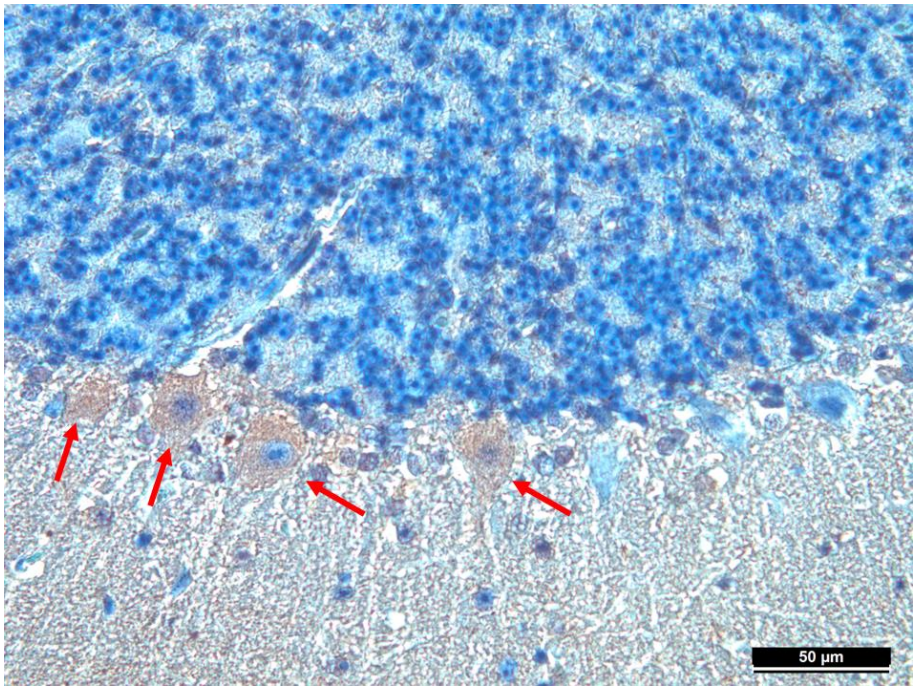
Resim 4.105. CF grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.106. EF grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.107. CM grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.108. EM grubuna ait beyincik kesitinde fosfo-SNCA immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)

4.3.8. TH immün işaretleme bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

TH ile immünohistokimyasal olarak işaretlenen her bir beyin (orta beyin ve beyin korteksi)

ve beyincik kesitinden 400X büyütmede rastgele 6 tane alan seçildi. İmmünpozitif alanların yoğunluğu, ImageJ programı (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, Maryland, ABD) kullanılarak yüzde olarak belirlendi. Değerlendirmelerin sonunda TH immün işaretlemesi için istatistiksel veri oluşturuldu. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.39 ve Çizelge 4.40'ta verilirken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin medyan değerleri Çizelge 4.41'de verilmiştir. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için bağımlı örneklem t-testi kullanılırken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için Mann-Whitney testi kullanıldı (Çizelge 4.42). Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için ANOVA kullanıldı (Çizelge 4.43). ANOVA ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı Tukey HSD yöntemi ile değerlendirildi (Çizelge 4.43). Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin çoklu karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı (Çizelge 4.43). Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi. İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki TH immün işaretlemelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.3h, Şekil 4.5h ve Şekil 4.7h'de verilmiştir.

Çizelge 4.39. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde TH immün işaretlemelerine ait ortalama değerler

	TH (Ortalama değer)					
	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
Orta Beyin	0,509	0,460	0,750	0,965	0,487	0,858

Çizelge 4.40. Deney gruplarına göre orta beyin kesitlerinde TH immün işaretlemelerine ait standart sapma değerleri

	TH (Standart sapma değeri)					
	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
Orta Beyin	0,360	0,086	0,292	0,329	0,261	0,317

Çizelge 4.41. Deney gruplarına göre beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde TH immün işaretlemelerine ait medyan değerleri

TH (Medyan değeri)						
Beyin korteksi	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,237	0,212	0,164	0,406	0,237	0,300
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,187	0,210	0,192	0,372	0,210	0,242

Çizelge 4.42. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde TH immün işaretlemelerinin gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) α: Bağımlı örneklem t-testi, β: Mann-Whitney testi

	TH (P değeri)		
	Orta beyin	Beyin korteksi	Beyincik
CF / CM	$0,760^{\alpha}$	$0,931^{\beta}$	$0,792^{\beta}$
CF / EF	$0,231^{\alpha}$	$0,180^{\beta}$	$0,699^{\beta}$
CF / EM	$\mathbf{0,045^{\alpha}}$	$0,132^{\beta}$	$0,485^{\beta}$
CM / EF	$0,063^{\alpha}$	$0,537^{\beta}$	$0,662^{\beta}$
CM / EM	$\mathbf{0,009^{\alpha}}$	$0,177^{\beta}$	$0,662^{\beta}$
EF / EM	$0,261^{\alpha}$	$\mathbf{0,015^{\beta}}$	$0,589^{\beta}$
CG / EG	$\mathbf{0,006^{\alpha}}$	$0,786^{\beta}$	$0,651^{\beta}$

Çizelge 4.43. Orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinde TH immün işaretlemelerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) γ: ANOVA, δ: Kruskal-Wallis testi

	TH (P değeri)	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Orta beyin	$\mathbf{0,033^{\gamma}}$	CM / EM (Tukey HSD, **p=0,048**)
Beyin korteksi	$0,075^{\delta}$	-
Beyincik	$0,811^{\delta}$	-

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin kesitlerindeki TH immün işaretlemesi açısından CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,045**) ve CM kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,009**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu

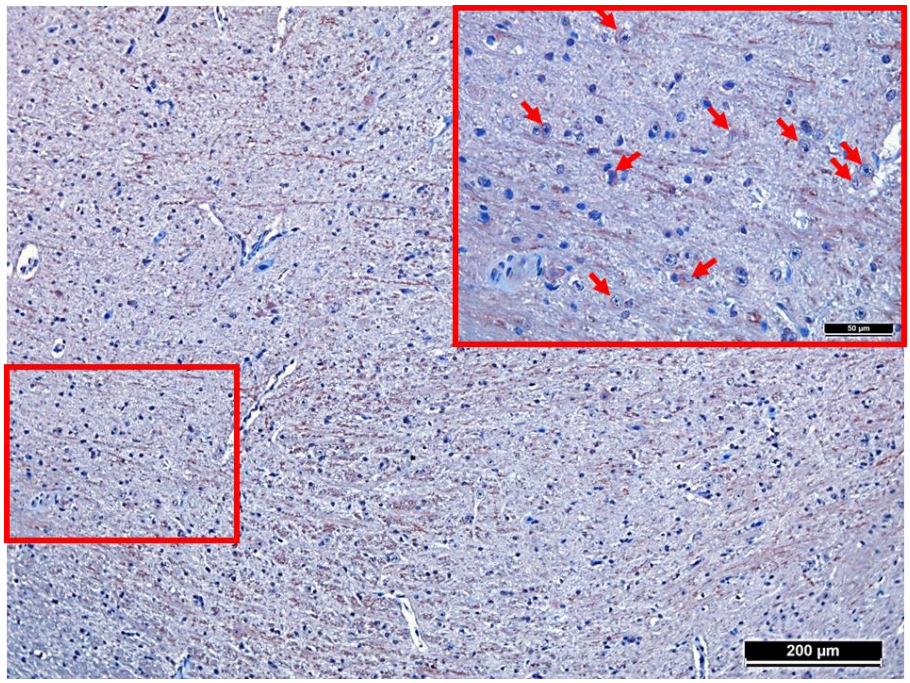
ayrıca kontrol grubu (CG) ile deney grubu (EG) (**p=0,006**) arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (Çizelge 4.42). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında orta beyin kesitlerindeki TH immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p=0,033**) (Çizelge 4.43). Bu durumun CM kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,048**) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı tespit edildi (Çizelge 4.43). İkili karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda orta beyin kesitlerindeki TH immün işaretlemesinin hem CF kontrol grubuna göre EM deney grubunda hem de kontrol grubuna (CG) göre deney grubunda (EG) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.42). İkili ve çoklu karşılaştırmalar doğrultusunda orta beyin kesitlerinde TH immün işaretlemesinin CM kontrol grubuna göre EM deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ancak kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlendi (Çizelge 4.42 ve Çizelge 4.43).

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyin korteksi kesitlerindeki TH immün işaretlemesi açısından EF deney grubu ile EM deney grubu (**p=0,015**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.42). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyin korteksi kesitlerindeki TH immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,075) (Çizelge 4.43). İkili karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda beyin korteksi kesitlerindeki TH immün işaretlemesinin EF kontrol grubuna göre EM deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.42). İkili ve çoklu karşılaştırmalar doğrultusunda beyin korteksi kesitlerindeki TH immün işaretlemesi açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.42 ve Çizelge 4.43).

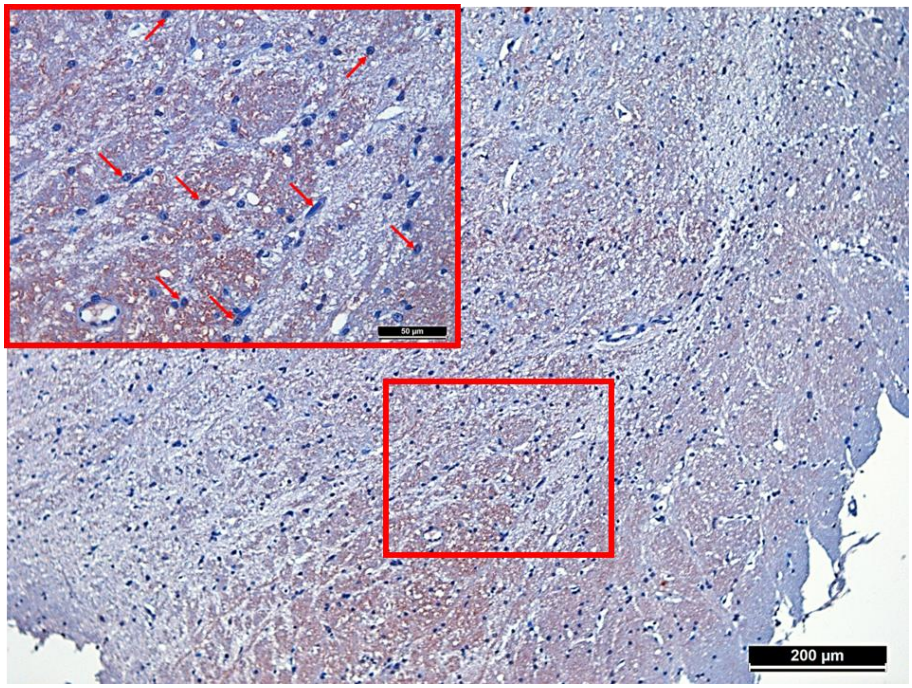
Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyincik kesitlerindeki TH immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.42). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyincik kesitlerindeki TH immün işaretlemesi açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,811) (Çizelge 4.43). Bu sonuçlar doğrultusunda beyincik kesitlerindeki TH immün işaretlemesi açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar

arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.42 ve Çizelge 4.43).

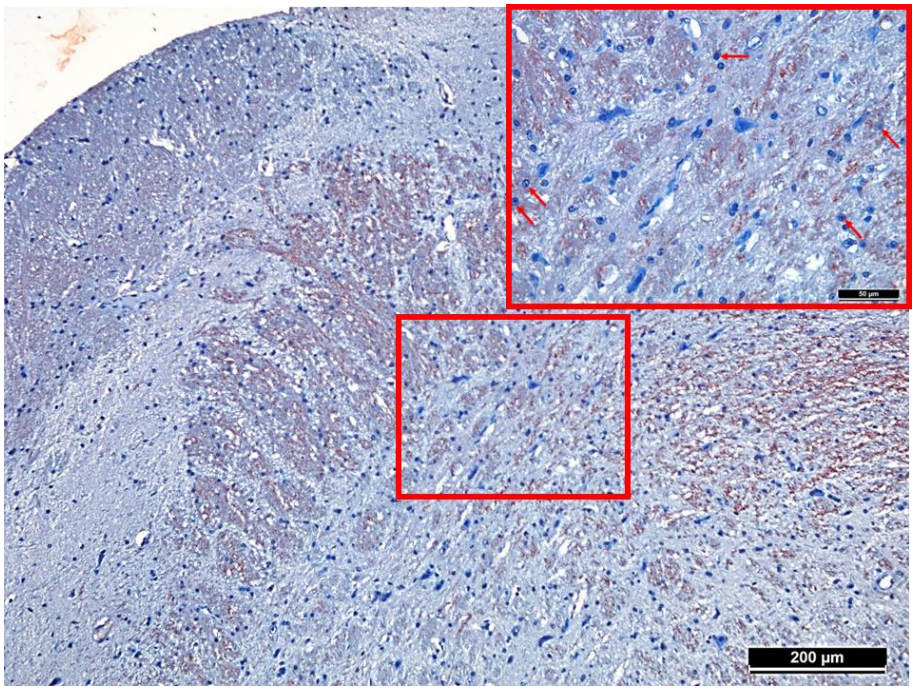
Gruplara ait orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki TH immün işaretlemelerini gösteren fotoğraflar Resim 4.109, Resim 4.110, Resim 4.111, Resim 4.112, Resim 4.113, Resim 4.114, Resim 4.115, Resim 4.116, Resim 4.117, Resim 4.118, Resim 4.119 ve Resim 4.120'de verilmiştir.



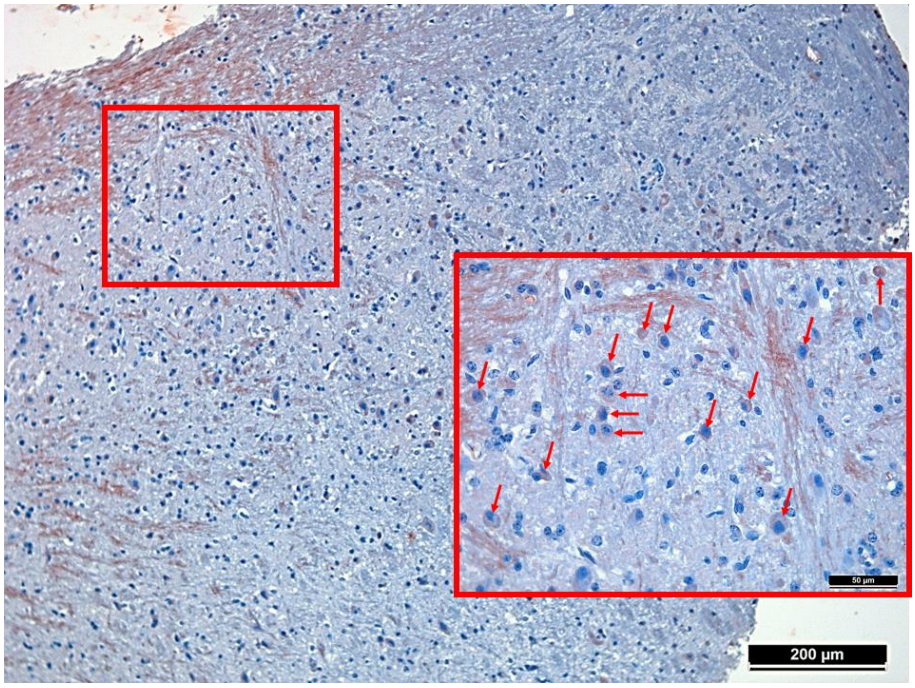
Resim 4.109. CF grubuna ait orta beyin kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (küçük resim X400, büyük resim X100)



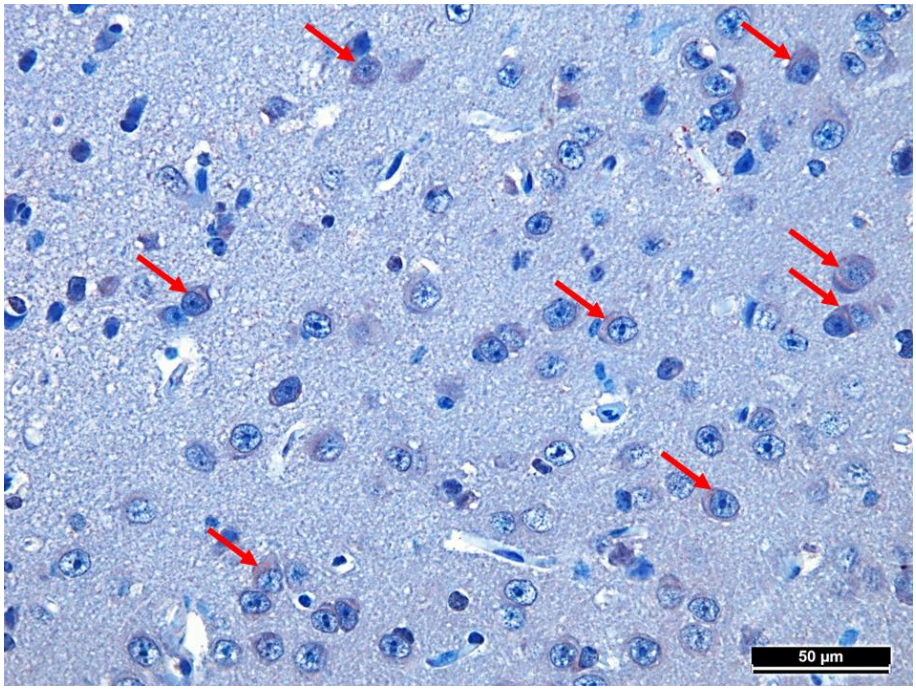
Resim 4.110. EF grubuna ait orta beyin kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (küçük resim X400, büyük resim X100)



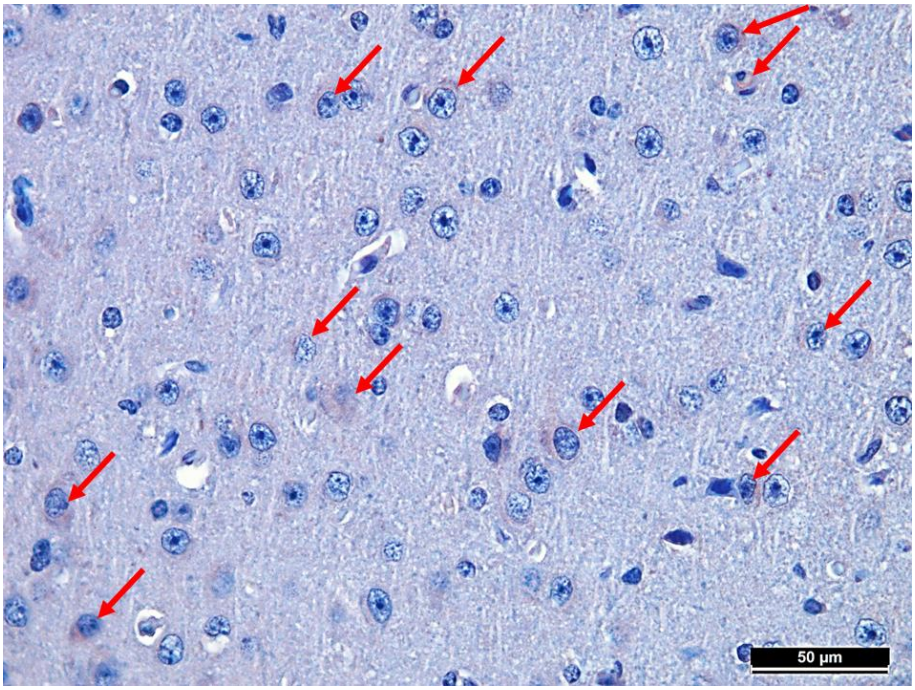
Resim 4.111. CM grubuna ait orta beyin kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (küçük resim X400, büyük resim X100)



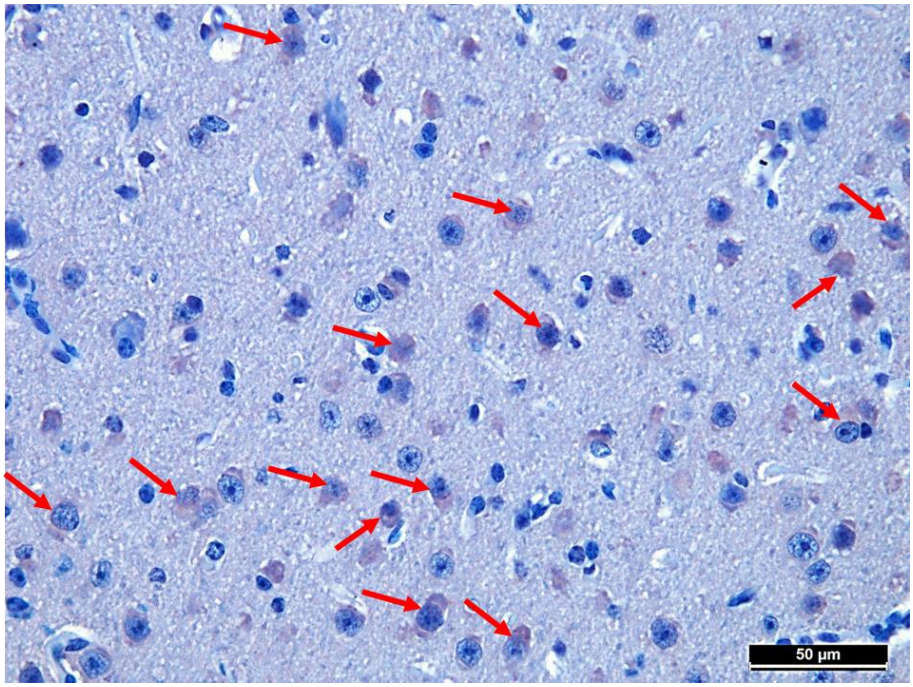
Resim 4.112. EM grubuna ait orta beyin kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (küçük resim X400, büyük resim X100)



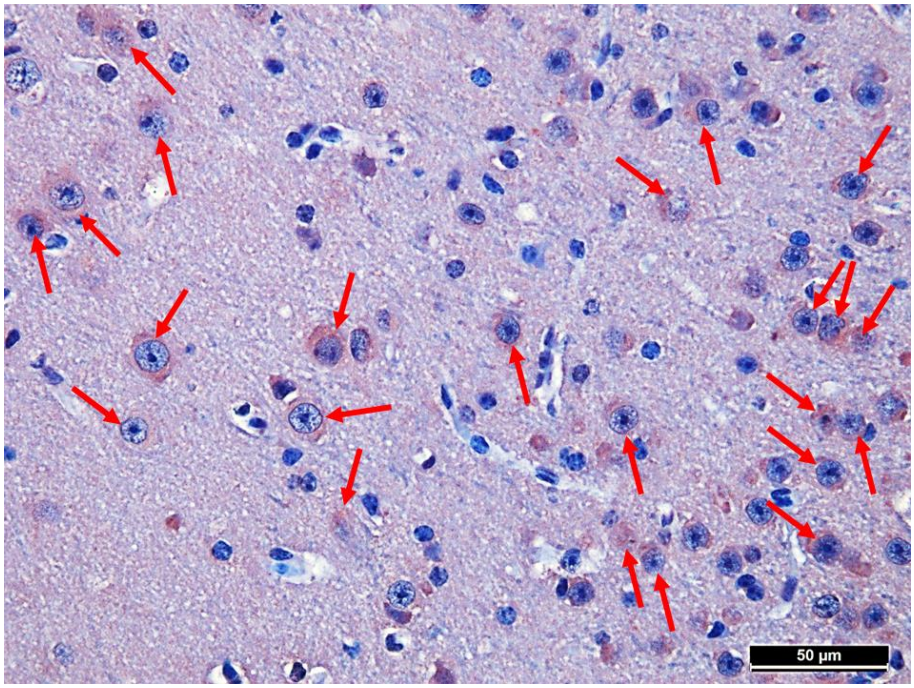
Resim 4.113. CF grubuna ait beyin korteksi kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



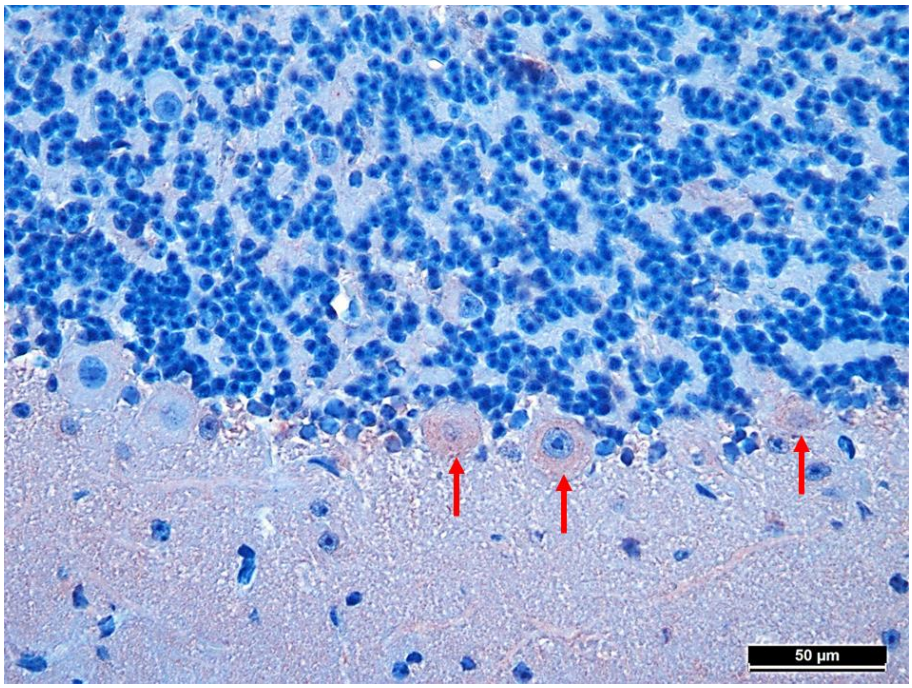
Resim 4.114. EF grubuna ait beyin korteksi kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



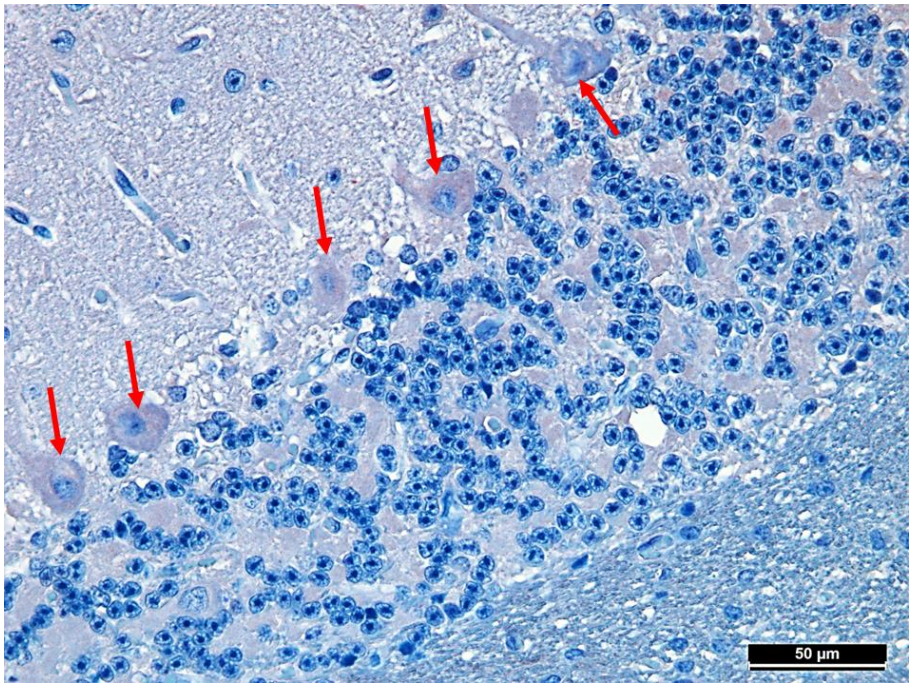
Resim 4.115. CM grubuna ait beyin korteksi kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



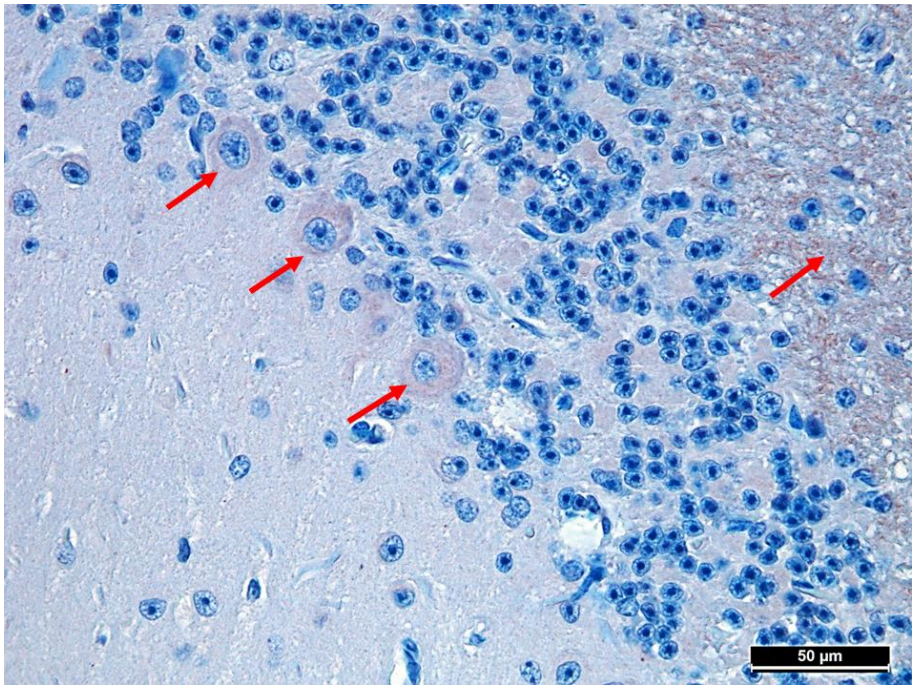
Resim 4.116. EM grubuna ait beyin korteksi kesitinde TH immünpozitif olan sinir hücreleri (kırmızı ok) (X400)



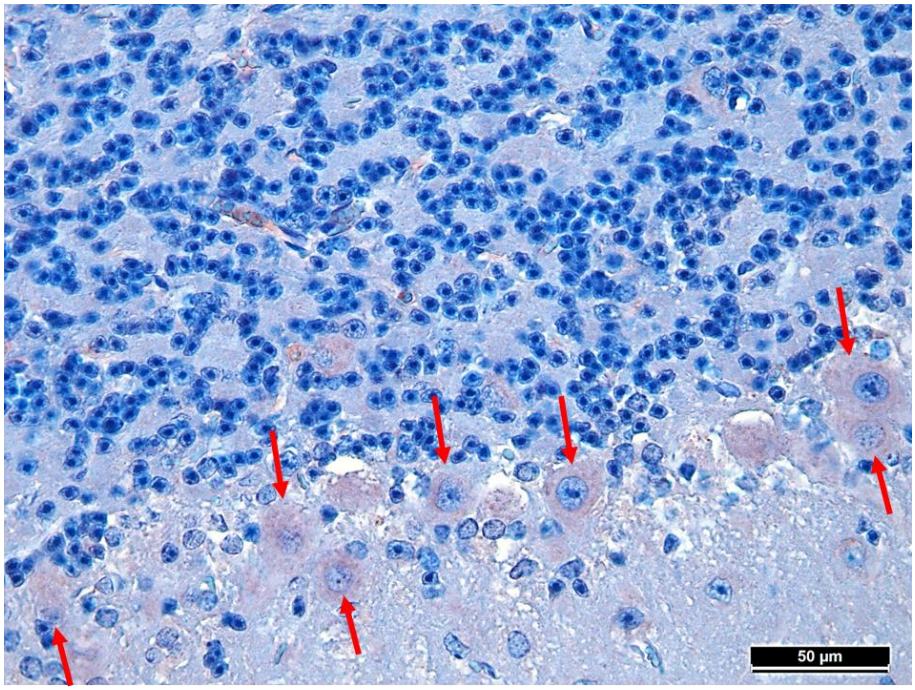
Resim 4.117. CF grubuna ait beyincik kesitinde TH immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



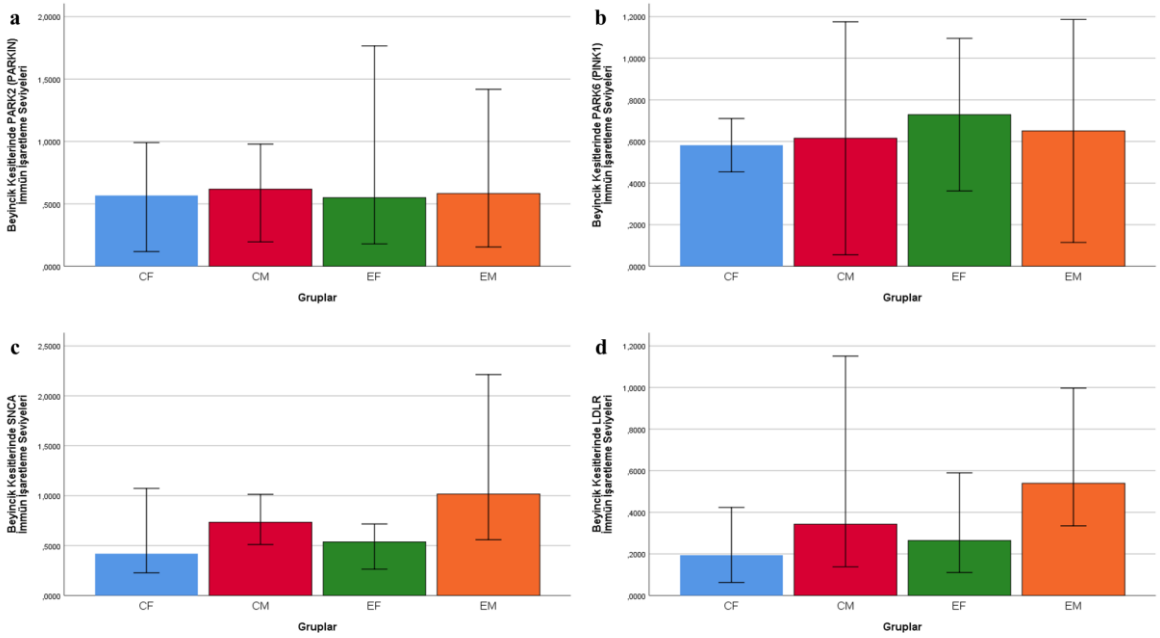
Resim 4.118. EF grubuna ait beyincik kesitinde TH immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



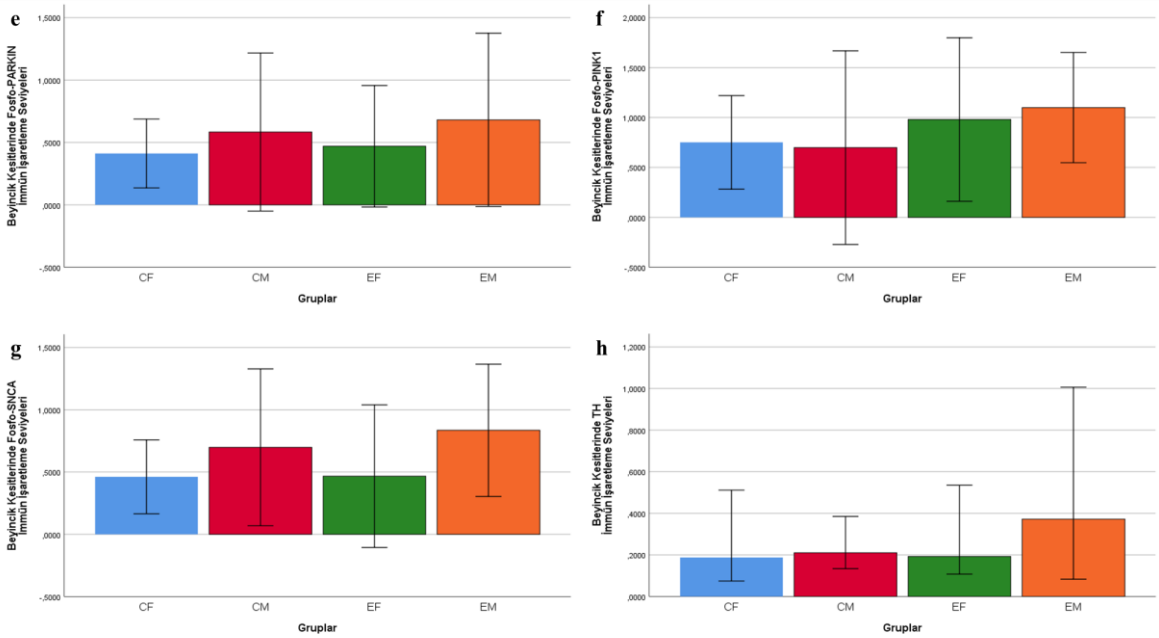
Resim 4.119. CM grubuna ait beyincik kesitinde TH immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Resim 4.120. EM grubuna ait beyincik kesitinde TH immünpozitif olan Purkinje hücreleri (kırmızı ok) (X400)



Şekil 4.6. Gruplara göre beyincik kesitlerinde (a) PARK2 (PARKIN), (b) PARK6 (PINK1), (c) SNCA ve (d) LDLR immün işaretlemeleri



Şekil 4.7. Gruplara göre beyincik kesitlerinde (e) fosfo-PARKIN, (f) fosfo-PINK1, (g) fosfo-SNCA ve (h) TH immün işaretlemeleri

4.4. Biyokimyasal Analiz Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Serum örneklerinde CHOL, GLU, HDL ve LDL seviyelerinin ölçümü yapıldı. Ölçümlerin sonunda her bir parametre için istatistiksel veri oluşturuldu. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.44 ve Çizelge 4.45'te verilirken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin medyan değerleri Çizelge 4.46'da verilmiştir. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için bağımlı örneklem t-testi kullanılırken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için Mann-Whitney testi kullanıldı (Çizelge 4.47). Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için ANOVA kullanıldı (Çizelge 4.48). ANOVA ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı Tukey HSD yöntemi ile değerlendirildi (Çizelge 4.48). Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin çoklu karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı (Çizelge 4.48). Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi (Çizelge 4.48). İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Serum örneklerinde ölçülen CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.8, Şekil 4.9,

Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.44. Deney gruplarına göre serumdaki CHOL ve LDL ölçümlerine ait ortalama değerler

Ortalama değer						
CHOL	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	75,333	88,000	262,666	277,833	81,090	270,250
LDL	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	54,000	54,800	160,666	161,000	54,363	160,833

Çizelge 4.45. Deney gruplarına göre serumdaki CHOL ve LDL ölçümlerine ait standart sapma değerleri

Standart sapma değeri						
CHOL	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	16,512	20,627	90,960	116,303	18,716	99,860
LDL	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	15,033	8,700	59,274	40,064	11,977	48,235

Çizelge 4.46. Deney gruplarına göre serumdaki HDL ve GLU ölçümlerine ait medyan değerleri

Medyan değeri						
HDL	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	6,650	6,400	49,650	50,250	6,400	49,900
GLU	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	114,000	235,000	140,500	139,000	121,000	139,500

Çizelge 4.47. Serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU ölçümlerinin gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) α: Bağımlı örneklem t-testi, β: Mann-Whitney testi

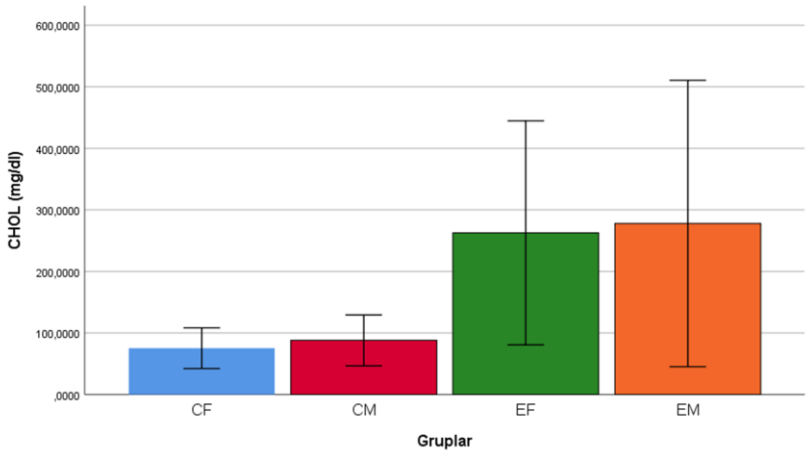
	P değeri			
	CHOL	LDL	HDL	GLU
CF / CM	0,286$^{\alpha}$	0,919$^{\alpha}$	0,792$^{\beta}$	**0,004$^{\beta}$**
CF / EF	**0,004$^{\alpha}$**	**0,006$^{\alpha}$**	**0,002$^{\beta}$**	0,240$^{\beta}$
CF / EM	**0,008$^{\alpha}$**	**0,001$^{\alpha}$**	**0,002$^{\beta}$**	**0,002$^{\beta}$**
CM / EF	**0,005$^{\alpha}$**	**0,007$^{\alpha}$**	**0,004$^{\beta}$**	**0,017$^{\beta}$**
CM / EM	**0,010$^{\alpha}$**	**0,000$^{\alpha}$**	**0,017$^{\beta}$**	0,247$^{\beta}$
EF / EM	0,806$^{\alpha}$	0,991$^{\alpha}$	0,818$^{\beta}$	0,699$^{\beta}$
CG / EG	**0,000$^{\alpha}$**	**0,000$^{\alpha}$**	**0,000$^{\beta}$**	0,740$^{\beta}$

Çizelge 4.48. Serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU ölçümlerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) γ: ANOVA, δ: Kruskal-Wallis testi, *: Bonferroni düzeltmesi

	P değeri	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
CHOL	**0,000$^{\gamma}$**	CF / EF (Tukey HSD, **p=0,002**); CF / EM (Tukey HSD, **p=0,001**) CM / EF (Tukey HSD, **p=0,007**); CM / EM (Tukey HSD, **p=0,003**)
LDL	**0,000$^{\gamma}$**	CF / EF (Tukey HSD, **p=0,001**); CF / EM (Tukey HSD, **p=0,001**) CM / EF (Tukey HSD, **p=0,001**); CM / EM (Tukey HSD, **p=0,001**)
HDL	**0,001$^{\delta}$**	CF / EF (SPSS 26.0-Analyze-Nonparametric Tests-Independent Samples-Customize Tests-Kruskal Wallis Test, **p=0,012*)** CF / EM (SPSS 26.0-Analyze-Nonparametric Tests-Independent Samples-Customize Tests-Kruskal Wallis Test, **p=0,028*)** CM / EF (SPSS 26.0-Analyze-Nonparametric Tests-Independent Samples-Customize Tests-Kruskal Wallis Test, **p=0,040***)
GLU	**0,006$^{\delta}$**	CF / CM (SPSS 26.0-Analyze-Nonparametric Tests-Independent Samples-Customize Tests-Kruskal Wallis Test, p=**0,004***)

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında serum örneklerindeki CHOL seviyeleri açısından CF kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,004**), CF kontrol grubu ile EM deney

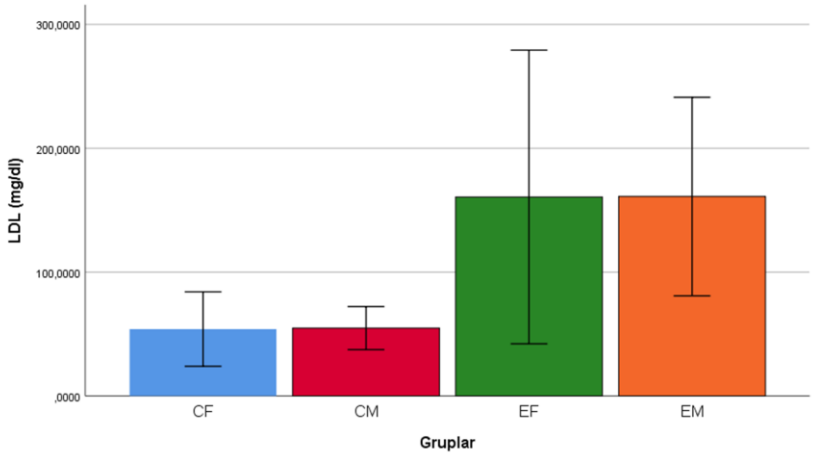
grubu (**p=0,008**), CM kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,005**) ve CM kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,010**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ayrıca kontrol grubu (CG) ile deney grubu (EG) (**p=0,000**) arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (Çizelge 4.47). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında serum örneklerindeki CHOL seviyeleri açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p=0,000**) (Çizelge 4.48). Bu durumun CF kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,002**), CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,001**), CM kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,007**) ve CM kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,003**) arasındaki anlamlı farklardan kaynaklandığı tespit edildi (Çizelge 4.48). Yapılan ikili karşılaştırmalar doğrultusunda serum örneklerindeki CHOL seviyelerinin kontrol grubuna (CG) göre deney grubunda (EG) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.47). Hem ikili hem de çoklu karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda serum örneklerindeki CHOL seviyelerinin CF ve CM kontrol gruplarına göre EF ve EM deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.47 ve Çizelge 4.48).



Şekil 4.8. Gruplara göre serumda ölçülen CHOL seviyeleri

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında serum örneklerindeki LDL seviyeleri açısından CF kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,006**), CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,001**), CM kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,007**) ve CM kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,000**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ayrıca kontrol grubu (CG) ile deney grubu (EG) (**p=0,000**) arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (Çizelge 4.47). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında serum

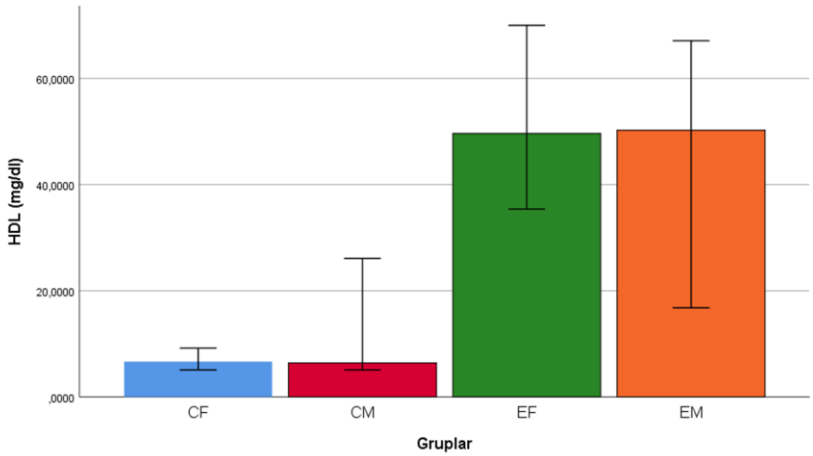
örneklerindeki LDL seviyeleri açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p=0,000**) (Çizelge 4.48). Bu durumun CF kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,001**), CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,001**), CM kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,001**) ve CM kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,001**) arasındaki anlamlı farklardan kaynaklandığı tespit edildi (Çizelge 4.48). Yapılan ikili karşılaştırmalar doğrultusunda serum örneklerindeki LDL seviyelerinin kontrol grubuna (CG) göre deney grubunda (EG) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.47). Hem ikili hem de çoklu karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda serum örneklerindeki LDL seviyelerinin CF ve CM kontrol gruplarına göre EF ve EM deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.47 ve Çizelge 4.48).



Şekil 4.9. Gruplara göre serumda ölçülen LDL seviyeleri

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında serum örneklerindeki HDL seviyeleri açısından CF kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,002**), CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,002**), CM kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,004**) ve CM kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,017**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ayrıca kontrol grubu (CG) ile deney grubu (EG) (**p=0,000**) arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (Çizelge 4.47). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında serum örneklerindeki HDL seviyeleri açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p=0,001**) (Çizelge 4.48). Bu durumun CF kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,012**), CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,028**) ve CM kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,040**) arasındaki anlamlı farklardan kaynaklandığı tespit edildi (Çizelge

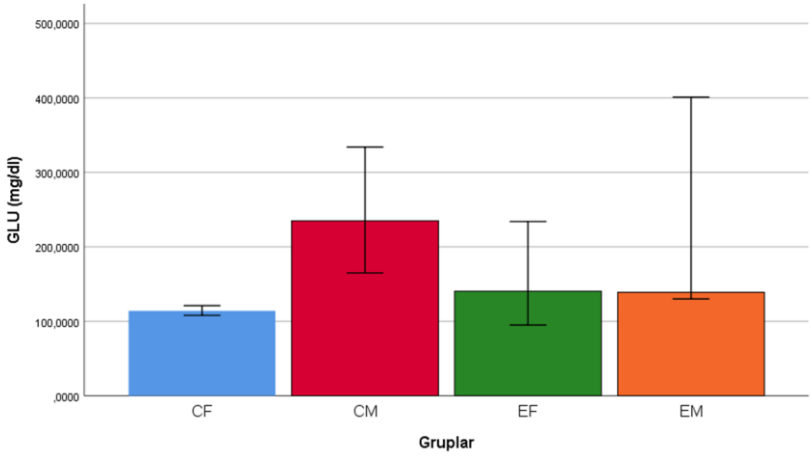
4.48). Yapılan ikili karşılaştırmalar doğrultusunda serum örneklerindeki HDL seviyelerinin hem CM kontrol grubuna göre EM deney grubunda hem de kontrol grubuna (CG) göre deney grubunda (EG) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.47). Yapılan ikili ve çoklu karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda serum örneklerindeki HDL seviyelerinin CF ve CM kontrol gruplarına göre EF deney grubunda ve CF kontrol grubuna göre EM deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.47 ve Çizelge 4.48).



Şekil 4.10. Gruplara göre serumda ölçülen HDL seviyeleri

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında serum örneklerindeki GLU seviyeleri açısından CF kontrol grubu ile CM kontrol grubu (**p=0,004**), CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,002**) ve CM kontrol grubu ile EF deney grubu (**p=0,017**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.47). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında serum örneklerindeki GLU seviyeleri açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p=0,006**) (Çizelge 4.48). Bu durumun CF kontrol grubu ile CM kontrol grubu (**p=0,004**) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı tespit edildi (Çizelge 4.48). Yapılan ikili karşılaştırmalar doğrultusunda serum örneklerindeki GLU seviyelerinin CF kontrol grubuna göre hem CM kontrol grubunda hem de EM deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi ayrıca EF deney grubuna göre CM kontrol grubunda da istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi (Çizelge 4.47). Yapılan çoklu karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda serum örneklerindeki GLU seviyelerinin CF kontrol grubuna göre CM kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.48). İkili ve çoklu

karşılaştırmalar doğrultusunda serum örneklerindeki GLU seviyeleri açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.47 ve Çizelge 4.48).



Şekil 4.11. Gruplara göre serumda ölçülen GLU seviyeleri

4.5. ELISA Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Kobaylardan elde edilen serum serum örnekleri ile beyin ve beyincik dokularındaki apo B seviyelerinin belirlenmesinde Guineapig Guinea pig Apolipoprotein B ELISA kiti (BT LAB: Bioassay Technology Laboratory, Katalog no: EA0004Gp, China) kullanıldı ve sonrasında istatistiksel veri oluşturuldu. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.49 ve Çizelge 4.50'de verilmiştir. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için bağımlı örneklem t-testi kullanıldı (Çizelge 4.51). Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası çoklu karşılaştırılması için ANOVA kullanıldı (Çizelge 4.52). ANOVA ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı Tukey HSD yöntemi ile değerlendirildi. İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Serum örnekleri ile beyin ve beyincik dokularında belirlenen apo B seviyelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.12, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.49. Deney gruplarına göre serum, beyin ve beyincikteki Apo B ölçümlerine ait ortalama değerler

Apo B (Ortalama değer)						
Serum	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	12,780	13,488	14,103	16,088	13,101	15,095
Beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	3,695	4,256	4,325	5,156	3,950	4,740
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	4,631	3,754	4,156	4,490	4,232	4,323

Çizelge 4.50. Deney gruplarına göre serum, beyin ve beyincikteki Apo B ölçümlerine ait standart sapma değerleri

Apo B (Standart sapma değeri)						
Serum	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	2,548	2,595	3,796	2,471	2,465	3,225
Beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	1,991	1,638	1,196	0,986	1,772	1,132
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	1,633	1,002	1,818	1,484	1,395	1,592

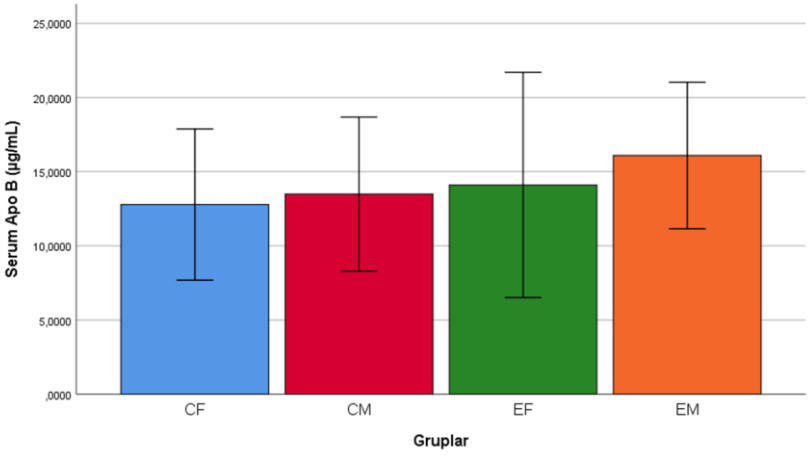
Çizelge 4.51. Deney gruplarına göre serum, beyin ve beyincikteki Apo B ölçümlerinin gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) α: Bağımlı örneklem t-testi

	P değeri		
	Serum	Beyin	Beyincik
CF / CM	0,660$^{\alpha}$	0,627$^{\alpha}$	0,324$^{\alpha}$
CF / EF	0,495$^{\alpha}$	0,522$^{\alpha}$	0,644$^{\alpha}$
CF / EM	**0,046$^{\alpha}$**	0,149$^{\alpha}$	0,878$^{\alpha}$
CM / EF	0,766$^{\alpha}$	0,937$^{\alpha}$	0,670$^{\alpha}$
CM / EM	0,124$^{\alpha}$	0,288$^{\alpha}$	0,372$^{\alpha}$
EF / EM	0,308$^{\alpha}$	0,218$^{\alpha}$	0,735$^{\alpha}$
CG / EG	0,113$^{\alpha}$	0,212$^{\alpha}$	0,886$^{\alpha}$

Çizelge 4.52. Deney gruplarına göre serum, beyin ve beyincikteki Apo B ölçümlerinin gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) γ: ANOVA

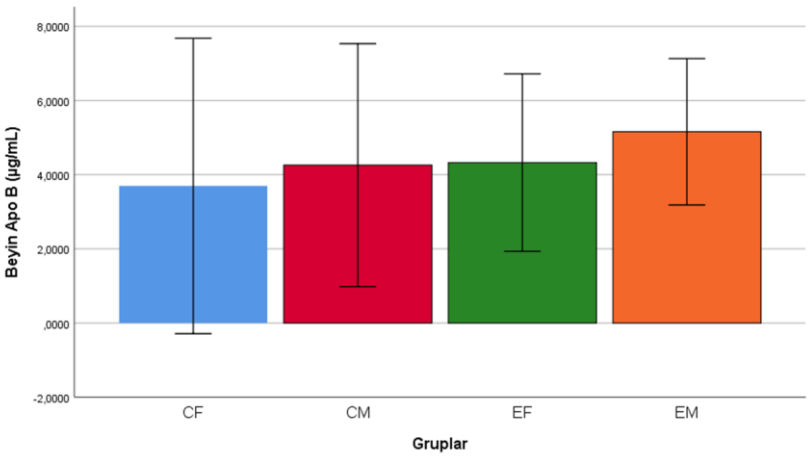
	P değeri	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Serum	0,271$^{\gamma}$	-
Beyin	0,427$^{\gamma}$	-
Beyincik	0,790$^{\gamma}$	-

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında serum örneklerindeki Apo B seviyeleri açısından CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,046**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.51). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında serum örneklerindeki Apo B seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,271) (Çizelge 4.52). Bu sonuçlar doğrultusunda her ne kadar deney gruplarının serum örneklerindeki Apo B seviyeleri kontrol gruplarına göre artmış olsa da kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.51 ve Çizelge 4.52).



Şekil 4.12. Gruplara göre serumda belirlenen Apo B seviyeleri

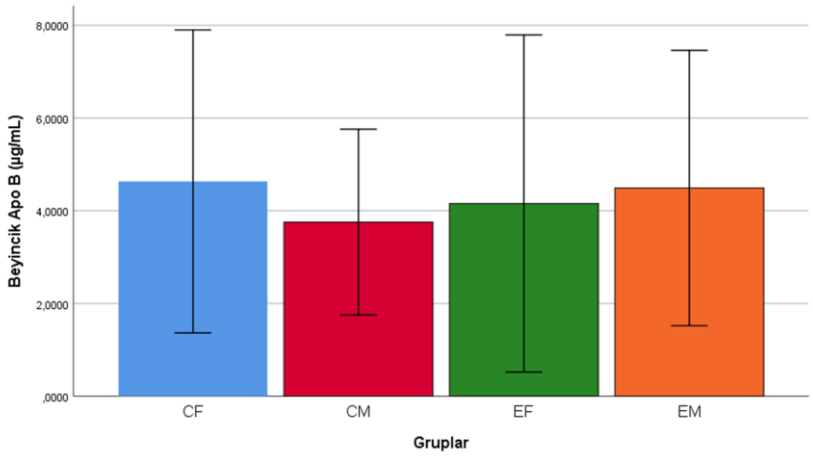
Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyin dokularındaki Apo B seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.51). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyin dokularındaki Apo B seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,427) (Çizelge 4.52). Bu sonuçlar doğrultusunda her ne kadar deney gruplarının beyin dokularındaki Apo B seviyeleri kontrol gruplarına göre artmış olsa da kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.51 ve Çizelge 4.52).



Şekil 4.13. Gruplara göre beyin dokusunda belirlenen Apo B seviyeleri

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyincik dokularındaki Apo B seviyeleri

açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.51). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyincik dokularındaki Apo B seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,790) (Çizelge 4.52). Bu sonuçlar doğrultusunda beyincik dokularındaki Apo B seviyeleri açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.51 ve Çizelge 4.52).



Şekil 4.14. Gruplara göre beyincik dokusunda belirlenen Apo B seviyeleri

4.6. Real Time qPCR Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

4.6.1. PARK2 (PARKIN) geni ekspresyon bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

$2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ metodu ile değerlendirilen PARK2 (PARKIN) geninin beyin ve beyincik dokusundaki ekspresyon seviyeleri için istatistiksel veri oluşturuldu. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin medyan değerleri Çizelge 4.53'te verilmiştir. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için Mann-Whitney testi kullanılırken (Çizelge 4.54) gruplar arası çoklu karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı (Çizelge 4.55). Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi (Çizelge 4.55). İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Beyin ve beyincik dokularındaki PARK2 (PARKIN) geni ekspresyon seviyelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.53. Deney gruplarına göre beyin ve beyincik dokularında PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyon seviyelerine ait medyan değerleri

PARK2 (PARKIN) (Medyan değeri)						
Beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	1,019	0,926	1,393	1,962	0,926	1,690
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,894	1,140	1,413	1,165	1,067	1,395

Çizelge 4.54. Beyin ve beyincik dokularında PARK2 (PARKIN) ekspresyonlarının gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) β: Mann-Whitney testi

	PARK2 (PARKIN) (P değeri)	
	Beyin	Beyincik
CF / CM	$1,000^{\beta}$	$0,792^{\beta}$
CF / EF	$0,132^{\beta}$	$0,132^{\beta}$
CF / EM	$\mathbf{0,015^{\beta}}$	$0,818^{\beta}$
CM / EF	$0,329^{\beta}$	$0,177^{\beta}$
CM / EM	$\mathbf{0,017^{\beta}}$	$0,931^{\beta}$
EF / EM	$0,180^{\beta}$	$0,589^{\beta}$
CG / EG	$\mathbf{0,006^{\beta}}$	$0,211^{\beta}$

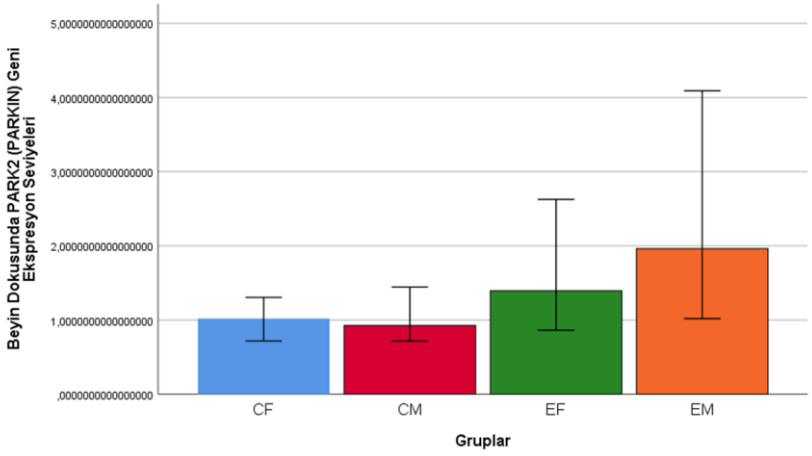
Çizelge 4.55. Beyin ve beyincik dokularında PARK2 (PARKIN) ekspresyonlarının gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) δ: Kruskal-Wallis testi, *: Bonferroni düzeltmesi

	PARK2 (PARKIN) (P değeri)	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Beyin	**0,030**$^{\delta}$	CF / EM (SPSS 26.0-Analyze-Nonparametric Tests-Independent Samples-Customize Tests-Kruskal Wallis Test, **p=0,050***)
Beyincik	0,444$^{\delta}$	-

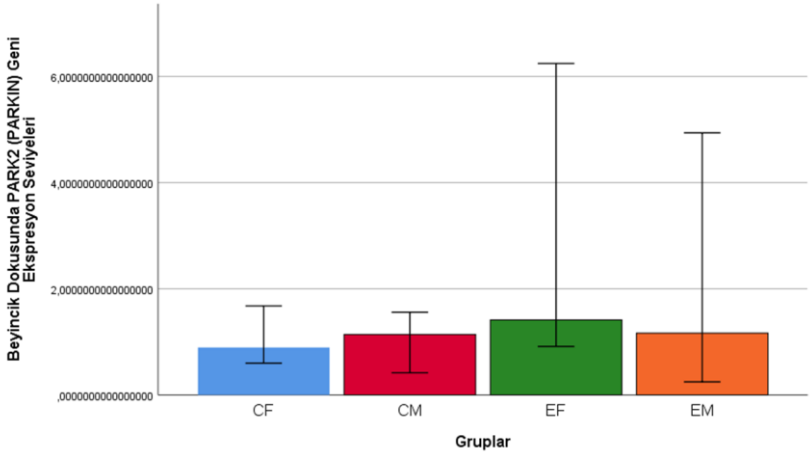
Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyin dokusunda PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyonu açısından CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,015**), CM kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,017**) ve kontrol grubu (CG) ile deney grubu (EG) (**p=0,006**) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Çizelge 4.54). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyin dokusunda PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (**p=0,030**) (Çizelge 4.55). Kruskal-Wallis testiyle fark bulunduğu için farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi ve bu durumun CF kontrol grubu ile EM deney grubu (**p=0,050**) arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı tespit edildi (Çizelge 4.55). İkili karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda beyin dokusunda PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyonunun hem CM kontrol grubuna göre EM deney grubunda hem de kontrol grubuna (CG) göre deney grubunda (EG) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Çizelge 4.54). İkili ve çoklu karşılaştırmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda beyin dokusunda PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyonunun CF kontrol grubuna göre EM deney grubunda istatistiksel olarak arttığı ancak kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadığı tespit edildi (Çizelge 4.54 ve Çizelge 4.55).

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyincik dokusunda PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyonu açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.54). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyincik dokusunda PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyonu açısından gruplar arasındaki farklar

istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,444) (Çizelge 4.55). Bu sonuçlar doğrultusunda ayrıca beyincik dokusunda PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyonu açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.54 ve Çizelge 4.55).



Şekil 4.15. Gruplara göre beyin dokusunda PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyon seviyeleri



Şekil 4.16. Gruplara göre beyincik dokusunda PARK2 (PARKIN) geninin ekspresyon seviyeleri

4.6.2. PARK6 (PINK1) geni ekspresyon bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

$2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ metodu ile değerlendirilen PARK6 (PINK1) geninin beyin ve beyincik dokusundaki ekspresyon seviyeleri için istatistiksel veri oluşturuldu. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin medyan değerleri Çizelge 4.56'da verilmiştir. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için Mann-Whitney testi kullanılırken (Çizelge 4.57) gruplar arası çoklu karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı (Çizelge 4.58). Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi. İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Beyin ve beyincik dokularındaki PARK6 (PINK1) geni ekspresyon seviyelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de verilmiştir.

Çizelge 4.56. Deney gruplarına göre beyin ve beyincik dokularında PARK6 (PINK1) geninin ekspresyon seviyelerine ait medyan değerleri

PARK6 (PINK1) (Medyan değeri)						
Beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,958	1,049	1,036	0,794	1,048	1,026
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	1,128	1,432	1,582	1,288	1,358	1,409

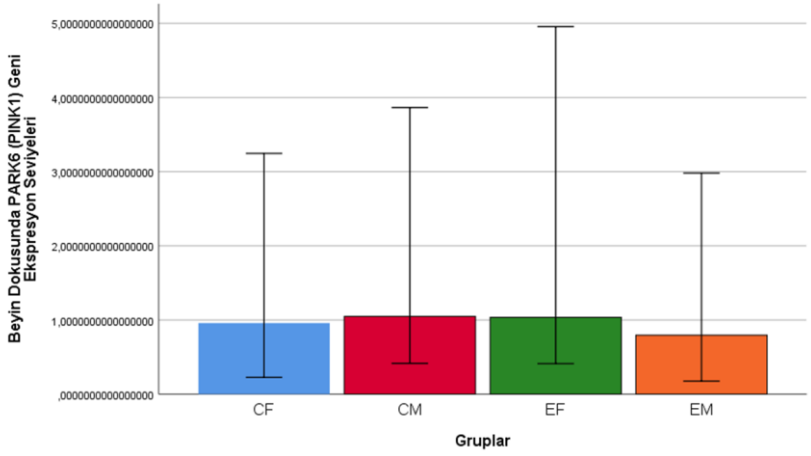
Çizelge 4.57. Beyin ve beyincik dokularında PARK6 (PINK1) ekspresyonlarının gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) β: Mann-Whitney testi

	PARK6 (PINK1) (P değeri)	
	Beyin	Beyincik
CF / CM	0,931$^{\beta}$	0,931$^{\beta}$
CF / EF	1,000$^{\beta}$	0,818$^{\beta}$
CF / EM	0,699$^{\beta}$	0,589$^{\beta}$
CM / EF	0,855$^{\beta}$	0,931$^{\beta}$
CM / EM	0,792$^{\beta}$	0,931$^{\beta}$
EF / EM	0,937$^{\beta}$	0,937$^{\beta}$
CG / EG	0,740$^{\beta}$	0,651$^{\beta}$

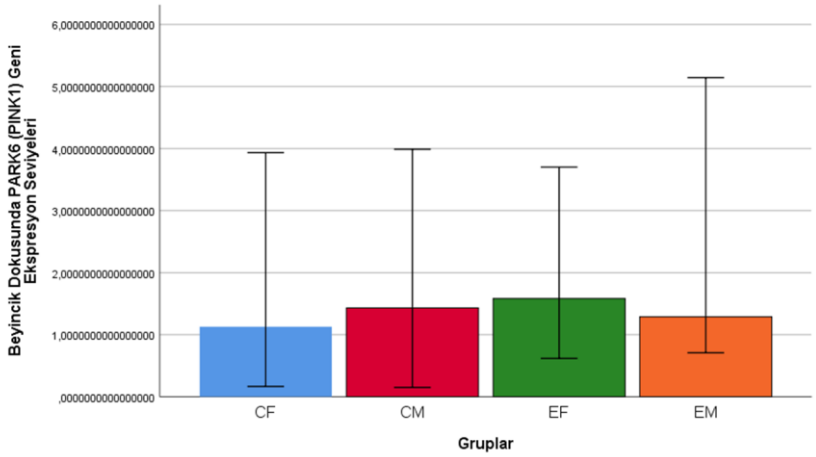
Çizelge 4.58. Beyin ve beyincik dokularında PARK6 (PINK1) ekspresyonlarının gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) δ: Kruskal-Wallis testi

	PARK6 (PINK1) (P değeri)	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Beyin	0,975$^{\delta}$	-
Beyincik	0,960$^{\delta}$	-

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyin ve beyincik dokularında PARK6 (PINK1) geninin ekspresyonu açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.57). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyin (p=0,975) ve beyincik (p=0,960) dokularında PARK6 (PINK1) geninin ekspresyonu açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.58). Bu sonuçlar doğrultusunda beyin ve beyincik dokularında PARK6 (PINK1) geninin ekspresyonu açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.57 ve Çizelge 4.58).



Şekil 4.17. Gruplara göre beyin dokusunda PARK6 (PINK1) geninin ekspresyon seviyeleri



Şekil 4.18. Gruplara göre beyincik dokusunda PARK6 (PINK1) geninin ekspresyon seviyeleri

4.6.3. SNCA geni ekspresyon bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

$2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ metodu ile değerlendirilen SNCA geninin beyin ve beyincik dokusundaki ekspresyon seviyeleri için istatistiksel veri oluşturuldu. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin medyan değerleri Çizelge 4.59'da verilmiştir. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için Mann-Whitney testi kullanılırken (Çizelge 4.60) gruplar arası çoklu karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı (Çizelge 4.61). Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi. İstatistiksel

olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edildi. Beyin ve beyincik dokularındaki SNCA geni ekspresyon seviyelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.19 ve Şekil 4.20'de verilmiştir.

Çizelge 4.59. Deney gruplarına göre beyin ve beyincik dokularında SNCA geninin ekspresyon seviyelerine ait medyan değerleri

SNCA (Medyan değeri)						
Beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	1,200	2,556	1,401	3,699	1,264	1,969
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	2,281	1,091	3,483	1,831	1,827	2,032

Çizelge 4.60. Beyin ve beyincik dokularında SNCA ekspresyonlarının gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) β: Mann-Whitney testi

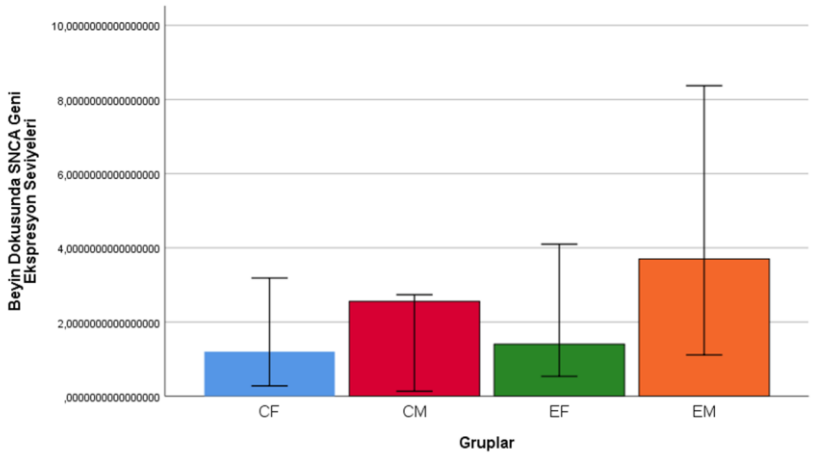
	SNCA (P değeri)	
	Beyin	Beyincik
CF / CM	0,931$^{\beta}$	0,792$^{\beta}$
CF / EF	0,394$^{\beta}$	0,394$^{\beta}$
CF / EM	0,132$^{\beta}$	0,937$^{\beta}$
CM / EF	1,000$^{\beta}$	0,329$^{\beta}$
CM / EM	0,126$^{\beta}$	0,931$^{\beta}$
EF / EM	0,240$^{\beta}$	0,485$^{\beta}$
CG / EG	0,134$^{\beta}$	0,497$^{\beta}$

Çizelge 4.61. Beyin ve beyincik dokularında SNCA ekspresyonlarının gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) δ: Kruskal-Wallis testi

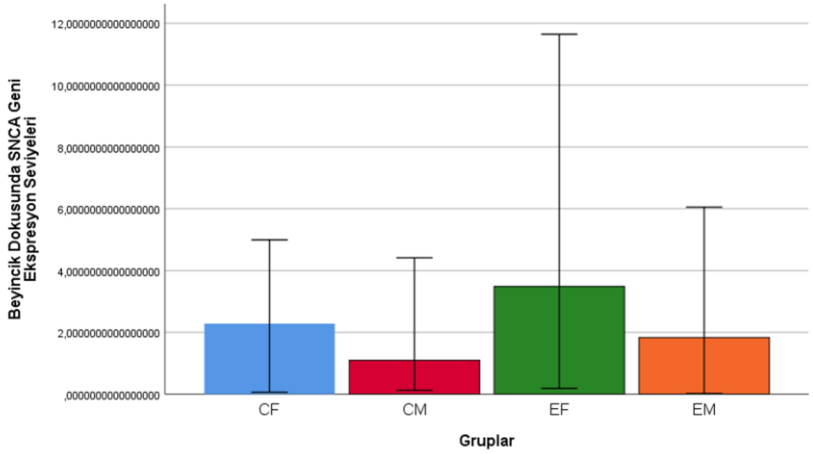
	SNCA (P değeri)	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Beyin	0,264$^{\delta}$	-
Beyincik	0,677$^{\delta}$	-

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyin ve beyincik dokularında SNCA

geninin ekspresyonu açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.60). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyin (p=0,264) ve beyincik (p=0,677) dokularında SNCA geninin ekspresyonu açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.61). Bu sonuçlar doğrultusunda her ne kadar diğer gruplara göre EM deney grubunun beyin dokusunda ve diğer gruplara göre EF deney grubunun beyincik dokusunda SNCA geninin ekspresyonu artmış olsa da beyin ve beyincik dokularında SNCA geninin ekspresyonu açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.60 ve Çizelge 4.61).



Şekil 4.19. Gruplara göre beyin dokusunda SNCA geninin ekspresyon seviyeleri



Şekil 4.20. Gruplara göre beyincik dokusunda SNCA geninin ekspresyon seviyeleri

4.6.4. LDLR geni ekspresyon bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

$2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ metodu ile değerlendirilen LDLR geninin beyin ve beyincik dokusundaki ekspresyon seviyeleri için istatistiksel veri oluşturuldu. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin medyan değerleri Çizelge 4.62'de verilmiştir. Nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası ikili karşılaştırması için Mann-Whitney testi kullanılırken (Çizelge 4.63) gruplar arası çoklu karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı (Çizelge 4.64). Kruskal-Wallis testi ile fark bulunduğu takdirde farkın kaynağı SPSS 26.0 programında sırasıyla Analyze, Nonparametric Tests, Independent Samples sekmeleri takip edilerek Customize Tests-Kruskal Wallis ile değerlendirildi. İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Beyin ve beyincik dokularındaki LDLR geni ekspresyon seviyelerinin gruplara göre karşılaştırılmasına ilişkin grafikler Şekil 4.21 ve Şekil 4.22'de verilmiştir.

Çizelge 4.62. Deney gruplarına göre beyin ve beyincik dokularında LDLR geninin ekspresyon seviyelerine ait medyan değerleri

LDLR (Medyan değeri)						
Beyin	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	0,952	1,104	1,486	1,248	1,041	1,340
Beyincik	CF (n=6)	CM (n=5)	EF (n=6)	EM (n=6)	CG (n=11)	EG (n=12)
	1,041	1,190	1,071	2,814	1,190	2,256

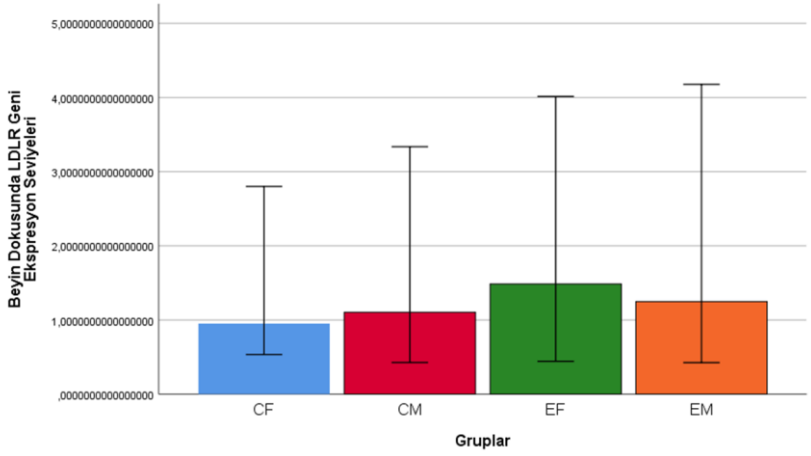
Çizelge 4.63. Beyin ve beyincik dokularında LDLR ekspresyonlarının gruplar arası ikili karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) β: Mann-Whitney testi

	LDLR (P değeri)	
	Beyin	Beyincik
CF / CM	1,000$^{\beta}$	1,000$^{\beta}$
CF / EF	0,394$^{\beta}$	0,699$^{\beta}$
CF / EM	0,485$^{\beta}$	0,093$^{\beta}$
CM / EF	0,429$^{\beta}$	0,792$^{\beta}$
CM / EM	0,792$^{\beta}$	0,177$^{\beta}$
EF / EM	1,000$^{\beta}$	0,818$^{\beta}$
CG / EG	0,288$^{\beta}$	0,151$^{\beta}$

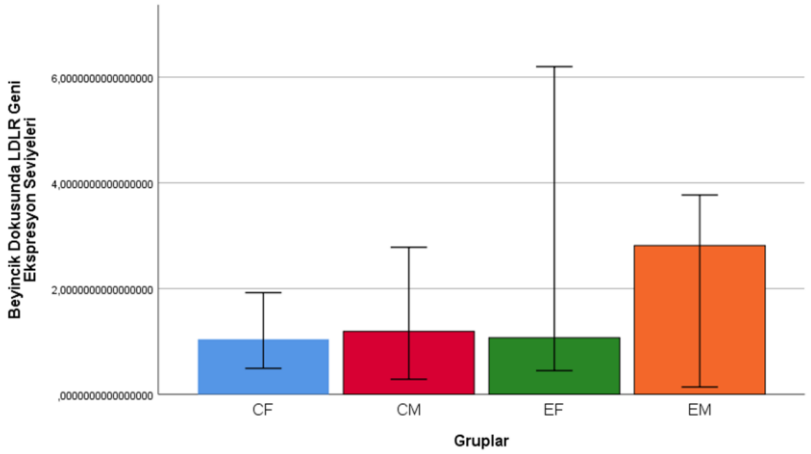
Çizelge 4.64. Beyin ve beyincik dokularında LDLR ekspresyonlarının gruplar arası çoklu karşılaştırması (İstatistiksel olarak p≤0,05 değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) δ: Kruskal-Wallis testi

	LDLR (P değeri)	Aralarında anlamlı fark bulunan gruplar
Beyin	0,737$^{\delta}$	-
Beyincik	0,428$^{\delta}$	-

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapıldığında beyin ve beyincik dokularında LDLR geninin ekspresyonu açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.63). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapıldığında beyin (p=0,737) ve beyincik (p=0,428) dokularında LDLR geninin ekspresyonu açısından gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.64). Bu sonuçlar doğrultusunda her ne kadar deney gruplarının beyin ve beyincik dokularında LDLR geninin ekspresyonu kontrol gruplarına göre artmış olsa da bu dokularda LDLR geninin ekspresyonu açısından kontrol grubundaki dişi kobaylar ile deney grubundaki dişi kobaylar ve kontrol grubundaki erkek kobaylar ile deney grubundaki erkek kobaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 4.63 ve Çizelge 4.64).



Şekil 4.21. Gruplara göre beyin dokusunda LDLR geninin ekspresyon seviyeleri



Şekil 4.22. Gruplara göre beyincik dokusunda LDLR geninin ekspresyon seviyeleri

4.7. Korelasyon Analizi Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Çalışmamızda elde ettiğimiz bazı verilerle ilgili korelasyon analizi SPSS 26.0 (IBM SPSS Statistics, ABD) programında yapılarak değerlendirildi. Parametrik dağılım gösteren değişkenlerin korelasyon analizi için Pearson korelasyon (r) kullanılırken nonparametrik dağılım gösteren değişkenlerin korelasyon analizi için Spearman's korelasyon (r_s) kullanıldı. Korelasyon katsayısı (r / r_s), korelasyon analizi sonucu hesaplanır ve -1 ile +1 arasında bir değer alır. Korelasyon katsayısının + veya – işareti iki değişken arasındaki ilişkinin yönünü belirtirken sayısal değeri iki değişken arasındaki ilişkinin gücünü belirtir. Korelasyon analizi sonuçlarının yorumlanmasında $p \leq 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ve p değeri anlamlı bulunduğu takdirde -1 ile -0,5 ve +0,5 ile +1

arasındaki değerler güçlü düzeyde ilişkili, -0,5 ile +0,5 arasındaki değerler zayıf düzeyde ilişkili olarak yorumlandı.

Orta beyin kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B seviyelerinin korelasyon analizi Çizelge 4.65'te verilmiştir. Sonuç olarak; orta beyin kesitlerindeki LDLR ve TH immün işaretlemeleri ile beyin dokusundaki apo B seviyesi arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki bulunurken orta beyin kesitlerindeki TH immün işaretlemesi ile beyincik dokusundaki apo B seviyesi arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi.

Çizelge 4.65. Orta beyin kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki Apo B seviyelerinin korelasyon analizi (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) ε: Pearson korelasyon (r) ζ: Spearman's korelasyon (r_s)

		Apo B		
	n=23	Serum	Beyin	Beyincik
		R veya R_s / P	R veya R_s / P	R veya R_s / P
Orta Beyin	PARK2 (PARKIN)	-0,157$^{\varepsilon}$ / 0,476	0,051ε / 0,817	0,176ε / 0,422
	PARK6 (PINK1)	0,221$^{\varepsilon}$ / 0,311	0,274$^{\varepsilon}$ / 0,207	-0,040$^{\varepsilon}$ / 0,856
	SNCA	0,126$^{\varepsilon}$ / 0,565	-0,006$^{\varepsilon}$ / 0,977	-0,150$^{\varepsilon}$ / 0,495
	LDLR	0,080$^{\varepsilon}$ / 0,716	**0,421$^{\varepsilon}$ / 0,045**	0,186$^{\varepsilon}$ / 0,396
	Fosfo-PARKIN	-0,202$^{\zeta}$ / 0,356	0,201$^{\zeta}$ / 0,359	0,111$^{\zeta}$ / 0,615
	Fosfo-PINK1	0,167$^{\zeta}$ / 0,446	0,039$^{\zeta}$ / 0,863	-0,321$^{\zeta}$ / 0,136
	Fosfo-SNCA	-0,186$^{\varepsilon}$ / 0,395	0,125$^{\varepsilon}$ / 0,570	0,174$^{\varepsilon}$ / 0,428
	TH	0,103$^{\varepsilon}$ / 0,641	**0,473$^{\varepsilon}$ / 0,023**	**0,472$^{\varepsilon}$ / 0,023**

Beyin korteksi kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B seviyelerinin korelasyon analizi Çizelge 4.66'da verilmiştir. Sonuç olarak; beyin korteksi kesitlerindeki fosfo-PARKIN immün işaretlemesi ile beyin dokusundaki apo B seviyesi arasında güçlü düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi.

Çizelge 4.66. Beyin korteksi kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki Apo B seviyelerinin korelasyon analizi (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) ε: Pearson korelasyon (r) ζ: Spearman's korelasyon (r_s)

		Apo B		
	n=23	Serum	Beyin	Beyincik
		R veya R_s / P	R veya R_s / P	R veya R_s / P
Beyin korteksi	PARK2 (PARKIN)	$0,306^{\zeta}$ / 0,155	0,286ζ / 0,186	-0,011ζ / 0,961
	PARK6 (PINK1)	$-0,070^{\varepsilon}$ / 0,751	$0,099^{\varepsilon}$ / 0,654	$0,112^{\varepsilon}$ / 0,611
	SNCA	$0,133^{\zeta}$ / 0,545	$0,283^{\zeta}$ / 0,190	$0,071^{\zeta}$ / 0,746
	LDLR	$0,128^{\zeta}$ / 0,559	$0,014^{\zeta}$ / 0,948	$-0,108^{\zeta}$ / 0,625
	Fosfo-PARKIN	$-0,041^{\zeta}$ / 0,854	**$0,534^{\zeta}$ / 0,009**	$0,026^{\zeta}$ / 0,906
	Fosfo-PINK1	$0,296^{\varepsilon}$ / 0,171	$0,079^{\varepsilon}$ / 0,720	$-0,172^{\varepsilon}$ / 0,432
	Fosfo-SNCA	$-0,160^{\varepsilon}$ / 0,466	$-0,037^{\varepsilon}$ / 0,865	$0,194^{\varepsilon}$ / 0,375
	TH	$0,258^{\zeta}$ / 0,235	$0,001^{\zeta}$ / 0,995	$0,190^{\zeta}$ / 0,385

Beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B seviyelerinin korelasyon analizi Çizelge 4.67'de verilmiştir. Sonuç olarak; beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi.

Çizelge 4.67. Beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki Apo B seviyelerinin korelasyon analizi (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) ε: Pearson korelasyon (r) ζ: Spearman's korelasyon (r_s)

		Apo B		
	n=23	Serum	Beyin	Beyincik
		R veya R_s / P	R veya R_s / P	R veya R_s / P
Beyincik	PARK2 (PARKIN)	$-0,200^{\zeta}$ / 0,361	$-0,005^{\zeta}$ / 0,980	$-0,251^{\zeta}$ / 0,248
	PARK6 (PINK1)	$0,085^{\varepsilon}$ / 0,700	$-0,006^{\varepsilon}$ / 0,979	$-0,333^{\varepsilon}$ / 0,121
	SNCA	$0,229^{\zeta}$ / 0,293	$0,188^{\zeta}$ / 0,390	$0,147^{\zeta}$ / 0,502
	LDLR	$0,217^{\zeta}$ / 0,319	$0,105^{\zeta}$ / 0,634	$-0,237^{\zeta}$ / 0,276
	Fosfo-PARKIN	$-0,246^{\varepsilon}$ / 0,258	$0,043^{\varepsilon}$ / 0,846	$-0,030^{\varepsilon}$ / 0,890
	Fosfo-PINK1	$0,189^{\varepsilon}$ / 0,387	$0,291^{\varepsilon}$ / 0,178	$-0,104^{\varepsilon}$ / 0,636
	Fosfo-SNCA	$0,038^{\varepsilon}$ / 0,864	$0,145^{\varepsilon}$ / 0,508	$0,058^{\varepsilon}$ / 0,793
	TH	$-0,036^{\zeta}$ / 0,872	$-0,019^{\zeta}$ / 0,930	$0,107^{\zeta}$ / 0,626

Beyin dokularında PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B seviyelerinin korelasyon analizi Çizelge 4.68'de verilmiştir. Sonuç olarak; beyin dokularında PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi; ancak beyin dokularında PARK2 (PARKIN) ve PARK6 (PINK1) genlerinin ekspresyon seviyeleri ile beyincikteki apo B seviyesinin arasındaki korelasyon ilişkisi ve beyin dokularında SNCA geninin ekspresyon seviyesi ile beyindeki apo B seviyesinin arasındaki korelasyon ilişkisi anlamlılığa oldukça yakındı.

Çizelge 4.68. Beyin dokularında PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki Apo B seviyelerinin korelasyon analizi (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) ζ: Spearman's korelasyon (r_s)

		Apo B		
	n=23	Serum	Beyin	Beyincik
		R_s / P	R_s / P	R_s / P
Beyin	PARK2 (PARKIN)	0,362$^{\zeta}$ / 0,090	0,288$^{\zeta}$ / 0,182	0,385$^{\zeta}$ / 0,069
	PARK6 (PINK1)	-0,115$^{\zeta}$ / 0,603	-0,121$^{\zeta}$ / 0,582	-0,402$^{\zeta}$ / 0,057
	SNCA	0,328$^{\zeta}$ / 0,126	0,388$^{\zeta}$ / 0,067	0,216$^{\zeta}$ / 0,321
	LDLR	-0,050$^{\zeta}$ / 0,819	0,003$^{\zeta}$ / 0,988	0,172$^{\zeta}$ / 0,431

Beyincik dokularında PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serum, beyin ve beyincikteki apo B seviyelerinin korelasyon analizi Çizelge 4.69'da verilmiştir. Sonuç olarak; beyincik dokularında PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serum, beyin ve beyincikteki apo B seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi.

Çizelge 4.69. Beyincik dokularında PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki Apo B seviyelerinin korelasyon analizi (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) ζ: Spearman's korelasyon (r_s)

		Apo B		
	n=23	Serum	Beyin	Beyincik
		R_s / P	R_s / P	R_s / P
Beyincik	PARK2 (PARKIN)	$0,281^{\zeta}$ / 0,195	$-0,037^{\zeta}$ / 0,867	$0,064^{\zeta}$ / 0,773
	PARK6 (PINK1)	$-0,279^{\zeta}$ / 0,198	$0,094^{\zeta}$ / 0,668	$-0,024^{\zeta}$ / 0,913
	SNCA	$0,142^{\zeta}$ / 0,517	$-0,002^{\zeta}$ / 0,993	$-0,149^{\zeta}$ / 0,497
	LDLR	$-0,095^{\zeta}$ / 0,667	$0,194^{\zeta}$ / 0,375	$0,225^{\zeta}$ / 0,301

Orta beyin kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi Çizelge 4.70'te verilmiştir. Sonuç olarak; serumdaki CHOL seviyesi ile orta beyin kesitlerindeki SNCA ve fosfo-SNCA immün işaretlemeleri arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edilirken fosfo-PINK1 ve TH immün işaretlemeleri arasında güçlü düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi. Serumdaki LDL seviyesi ile orta beyin kesitlerindeki SNCA, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edilirken fosfo-PINK1 immün işaretlemesi arasında güçlü düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi. Serumdaki HDL seviyesi ile orta beyin kesitlerindeki SNCA, fosfo-SNCA, fosfo-PINK1 ve TH immün işaretlemeleri arasında güçlü düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi. Orta beyin kesitlerindeki immün işaretlemeler ile serumdaki GLU seviyesi arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi.

Çizelge 4.70. Orta beyin kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) ε: Pearson korelasyon (r) ζ: Spearman's korelasyon (r_s)

	n=23	CHOL	LDL	HDL	GLU
		R veya R_s / P	R veya R_s / P	R veya R_s / P	R veya R_s / P
Orta Beyin	PARK2 (PARKIN)	$0,217^{\varepsilon}$ / 0,319	$0,117^{\varepsilon}$ / 0,594	$0,150^{\zeta}$ / 0,495	$-0,251^{\zeta}$ / 0,247
	PARK6 (PINK1)	$0,288^{\varepsilon}$ / 0,183	$0,408^{\varepsilon}$ / 0,053	$0,336^{\zeta}$ / 0,118	$0,325^{\zeta}$ / 0,131
	SNCA	**$0,459^{\varepsilon}$ / 0,028**	**$0,493^{\varepsilon}$ / 0,017**	**$0,514^{\zeta}$ / 0,012**	$0,141^{\zeta}$ / 0,521
	LDLR	$-0,128^{\varepsilon}$ / 0,560	$-0,188^{\varepsilon}$ / 0,389	$0,000^{\zeta}$ / 1,000	$-0,258^{\zeta}$ / 0,235
	Fosfo-PARKIN	$0,323^{\zeta}$ / 0,133	$0,360^{\zeta}$ / 0,092	$0,353^{\zeta}$ / 0,099	$-0,235^{\zeta}$ / 0,280
	Fosfo-PINK1	**$0,581^{\zeta}$ / 0,004**	**$0,596^{\zeta}$ / 0,003**	**$0,613^{\zeta}$ / 0,002**	$0,016^{\zeta}$ / 0,943
	Fosfo-SNCA	**$0,477^{\varepsilon}$ / 0,021**	**$0,497^{\varepsilon}$ / 0,016**	**$0,604^{\zeta}$ / 0,002**	$-0,396^{\zeta}$ / 0,061
	TH	**$0,501^{\varepsilon}$ / 0,015**	**$0,462^{\varepsilon}$ / 0,026**	**$0,534^{\zeta}$ / 0,009**	$-0,124^{\zeta}$ / 0,572

Beyin korteksi kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi Çizelge 4.71'de verilmiştir. Sonuç olarak beyin korteksi kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi.

Çizelge 4.71. Beyin korteksi kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) ε: Pearson korelasyon (r) ζ: Spearman's korelasyon (r_s)

	n=23	CHOL	LDL	HDL	GLU
		R veya R_s / P	R veya R_s / P	R veya R_s / P	R veya R_s / P
Beyin korteksi	PARK2 (PARKIN)	-0,221$^{\zeta}$ / 0,312	-0,224$^{\zeta}$ / 0,304	-0,260$^{\zeta}$ / 0,231	0,016$^{\zeta}$ / 0,943
	PARK6 (PINK1)	0,036$^{\varepsilon}$ / 0,871	0,000$^{\varepsilon}$ / 0,999	0,006$^{\zeta}$ / 0,977	-0,133$^{\zeta}$ / 0,545
	SNCA	0,000$^{\zeta}$ / 0,998	0,019$^{\zeta}$ / 0,930	-0,005$^{\zeta}$ / 0,982	0,102$^{\zeta}$ / 0,644
	LDLR	-0,140$^{\zeta}$ / 0,523	-0,223$^{\zeta}$ / 0,306	-0,210$^{\zeta}$ / 0,337	0,177$^{\zeta}$ / 0,420
	Fosfo-PARKIN	0,030$^{\zeta}$ / 0,893	0,004$^{\zeta}$ / 0,986	-0,045$^{\zeta}$ / 0,837	0,130$^{\zeta}$ / 0,554
	Fosfo-PINK1	0,169$^{\varepsilon}$ / 0,439	0,116$^{\varepsilon}$ / 0,600	0,156$^{\zeta}$ / 0,478	0,222$^{\zeta}$ / 0,309
	Fosfo-SNCA	-0,086$^{\varepsilon}$ / 0,695	-0,204$^{\varepsilon}$ / 0,351	-0,043$^{\zeta}$ / 0,846	0,003$^{\zeta}$ / 0,989
	TH	0,074$^{\zeta}$ / 0,738	0,086$^{\zeta}$ / 0,697	-0,063$^{\zeta}$ / 0,774	0,214$^{\zeta}$ / 0,326

Beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi Çizelge 4.72'de verilmiştir. Sonuç olarak; beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL ve HDL seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi. Serumdaki GLU seviyesi ile beyincik kesitlerindeki LDLR immün işaretlemesi arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi.

Çizelge 4.72. Beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) ε: Pearson korelasyon (r) ζ: Spearman's korelasyon (r_s)

	n=23	CHOL	LDL	HDL	GLU
		R veya R_s / P	R veya R_s / P	R veya R_s / P	R veya R_s / P
Beyincik	PARK2 (PARKIN)	$0,007^{\zeta}$ / 0,973	$-0,077^{\zeta}$ / 0,727	$0,013^{\zeta}$ / 0,954	$0,118^{\zeta}$ / 0,591
	PARK6 (PINK1)	$0,102^{\varepsilon}$ / 0,642	$0,278^{\varepsilon}$ / 0,199	$0,114^{\zeta}$ / 0,606	$0,250^{\zeta}$ / 0,249
	SNCA	$0,316^{\zeta}$ / 0,142	$0,353^{\zeta}$ / 0,099	$0,301^{\zeta}$ / 0,163	$0,265^{\zeta}$ / 0,222
	LDLR	$0,219^{\zeta}$ / 0,316	$0,204^{\zeta}$ / 0,352	$0,170^{\zeta}$ / 0,438	**$0,492^{\zeta}$ / 0,017**
	Fosfo-PARKIN	$0,345^{\varepsilon}$ / 0,107	$0,162^{\varepsilon}$ / 0,459	$0,272^{\zeta}$ / 0,210	$0,151^{\zeta}$ / 0,491
	Fosfo-PINK1	$0,214^{\varepsilon}$ / 0,327	$0,319^{\varepsilon}$ / 0,138	$0,353^{\zeta}$ / 0,099	$0,044^{\zeta}$ / 0,842
	Fosfo-SNCA	$0,265^{\varepsilon}$ / 0,221	$0,149^{\varepsilon}$ / 0,498	$0,078^{\zeta}$ / 0,723	$0,155^{\zeta}$ / 0,481
	TH	$0,250^{\zeta}$ / 0,249	$0,241^{\zeta}$ / 0,268	$0,260^{\zeta}$ / 0,231	$0,124^{\zeta}$ / 0,574

Beyin dokularındaki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi Çizelge 4.73'te verilmiştir. Sonuç olarak; beyin dokularındaki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi.

Çizelge 4.73. Beyin dokularındaki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) ζ: Spearman's korelasyon (r_s)

	n=23	CHOL	LDL	HDL	GLU
		R_s / P	R_s / P	R_s / P	R_s / P
Beyin	PARK2 (PARKIN)	0,357$^{\zeta}$ / 0,094	0,248$^{\zeta}$ / 0,254	0,260$^{\zeta}$ / 0,231	-0,134 / 0,542
	PARK6 (PINK1)	-0,025$^{\zeta}$ / 0,909	-0,004$^{\zeta}$ / 0,986	0,039$^{\zeta}$ / 0,860	0,034 / 0,877
	SNCA	0,265$^{\zeta}$ / 0,221	0,274$^{\zeta}$ / 0,206	0,255$^{\zeta}$ / 0,241	0,161 / 0,464
	LDLR	0,168$^{\zeta}$ / 0,443	0,044$^{\zeta}$ / 0,840	0,115$^{\zeta}$ / 0,601	-0,275 / 0,205

Beyincik dokularındaki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi Çizelge 4.74'te verilmiştir. Sonuç olarak; beyincik dokularındaki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serumdaki CHOL, LDL ve GLU seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi; ancak beyincik dokusundaki LDLR geninin ekspresyon seviyesi ile serumdaki CHOL ve LDL seviyeleri arasındaki korelasyon ilişkisi anlamlılığa oldukça yakındı. Beyincik dokusundaki LDLR geninin ekspresyon seviyesi ile serumdaki HDL seviyesi arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi.

Çizelge 4.74. Beyincik dokularındaki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyelerinin korelasyon analizi (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) ζ: Spearman's korelasyon (r_s)

	n=23	CHOL	LDL	HDL	GLU
		R_s / P	R_s / P	R_s / P	R_s / P
Beyincik	PARK2 (PARKIN)	$0,256^{\zeta}$ / 0,239	$0,185^{\zeta}$ / 0,399	$0,210^{\zeta}$ / 0,337	$0,205^{\zeta}$ / 0,349
	PARK6 (PINK1)	$0,116^{\zeta}$ / 0,597	$0,201^{\zeta}$ / 0,359	$0,194^{\zeta}$ / 0,375	$-0,164^{\zeta}$ / 0,454
	SNCA	$0,139^{\zeta}$ / 0,527	$0,077^{\zeta}$ / 0,727	$0,094^{\zeta}$ / 0,668	$0,170^{\zeta}$ / 0,438
	LDLR	$0,392^{\zeta}$ / 0,064	$0,396^{\zeta}$ / 0,061	**$0,417^{\zeta}$ / 0,048**	$0,063^{\zeta}$ / 0,774

Serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B seviyelerinin korelasyon analizi Çizelge 4.75'te verilmiştir. Sonuç olarak serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyeleri ile serum ve beyindeki apo B seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi. Serumdaki GLU seviyesi ile beyincikteki apo B seviyesi arasında güçlü düzeyde negatif anlamlı ilişki tespit edildi. Serumdaki CHOL seviyesi ile LDL ve HDL seviyeleri arasında güçlü düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi. Serumdaki LDL seviyesi ile HDL seviyesi arasında güçlü düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi. Beyindeki apo B seviyesi ile beyincikteki apo B seviyesi arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi.

Çizelge 4.75. Serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki Apo B seviyelerinin korelasyon analizi (İstatistiksel olarak $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiş olup koyu karakterlerle vurgulanmıştır) ε: Pearson korelasyon (r) ζ: Spearman's korelasyon (r_s)

		Apo B			Serum			
	n=23	Serum	Beyin	Beyincik	CHOL	LDL	HDL	GLU
		R_s / P	R_s / P	R_s / P	R_s / P	R_s / P	R_s / P	R_s / P
Serum	CHOL	$0,031^{\varepsilon}$ / 0,888	$0,138^{\varepsilon}$ / 0,529	$-0,013^{\varepsilon}$ / 0,952	-	**$0,925^{\varepsilon}$ / 0,000**	**$0,960^{\zeta}$ / 0,000**	$0,230^{\zeta}$ / 0,291
	LDL	$0,132^{\varepsilon}$ / 0,547	$0,119^{\varepsilon}$ / 0,589	$-0,152^{\varepsilon}$ / 0,488	**$0,925^{\varepsilon}$ / 0,000**	-	**$0,946^{\zeta}$ / 0,000**	$0,137^{\zeta}$ / 0,533
	HDL	$0,110^{\zeta}$ / 0,618	$0,125^{\zeta}$ / 0,571	$-0,051^{\zeta}$ / 0,818	**$0,960^{\zeta}$ / 0,000**	**$0,946^{\zeta}$ / 0,000**	-	$0,154^{\zeta}$ / 0,482
	GLU	$0,262^{\zeta}$ / 0,228	$-0,119^{\zeta}$ / 0,589	**$-0,515^{\zeta}$ / 0,012**	$0,230^{\zeta}$ / 0,291	$0,137^{\zeta}$ / 0,533	$0,154^{\zeta}$ / 0,482	-
Apo B	Serum	-	$0,248^{\varepsilon}$ / 0,254	$-0,032^{\varepsilon}$ / 0,886	$0,031^{\varepsilon}$ / 0,888	$0,132^{\varepsilon}$ / 0,547	$0,110^{\zeta}$ / 0,618	$0,262^{\zeta}$ / 0,228
	Beyin	$0,248^{\varepsilon}$ / 0,254	-	**$0,420^{\varepsilon}$ / 0,046**	$0,138^{\varepsilon}$ / 0,529	$0,119^{\varepsilon}$ / 0,589	$0,125^{\zeta}$ / 0,571	$-0,119^{\zeta}$ / 0,589
	Beyincik	$-0,032^{\varepsilon}$ / 0,886	**$0,420^{\varepsilon}$ / 0,046**	-	$-0,013^{\varepsilon}$ / 0,952	$-0,152^{\varepsilon}$ / 0,488	$-0,051^{\zeta}$ / 0,818	**$-0,515^{\zeta}$ / 0,012**

5. TARTIŞMA

Dislipideminin nöronal dejenerasyon için bir risk faktörü olabileceği düşünülmektedir [253]. Metabolik sendromlu hastalarda, hiperlipidemi veya hiperkolesterolemi gibi dislipidemi ile ilişkili semptomların ateroskleroz, kalp hastalığı, diyabet ve nörodejeneratif hastalık gibi kardiyovasküler ve sinir sistemi ile ilişkili hastalıkların riskini arttırdıkları bildirilmiştir; ancak dislipideminin nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olup olmadığı henüz net değildir [253-258]. Apo B proteininin yüksek miktardaki seviyesinin sadece ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklarla değil aynı zamanda nörodejeneratif değişikliklerle de ilişkili olabileceğini raporlayan çalışmalar kadar Apo B proteini ile nörodejeneratif değişiklikler arasında bir bağlantı kuramayan çalışmalar da bulunmaktadır ve her iki açıdan da bu çalışmalar oldukça az sayıdadır.

Lipoprotein metabolizmasındaki farklılıklar, insanlar ve vahşi tip fareler arasında farklı bir serum lipid profili ile sonuçlanır [259, 260]. Düşük LDL/HDL oranı nedeniyle, vahşi tip fareler hiperkolesterolemiye karşı korunur ve ateroskleroza karşı dirençlidir [259, 260]. Bu nedenle, hiperlipidemi ve hiperkolesteroleminin hayvan çalışmaları için birkaç transgenik fare modeli oluşturulmuştur; ancak transgenik hayvanların lipid profili hala insanlarınkine tamamen eşdeğer değildir [11, 260]. Bu yüzden çalışmamızda insan lipoprotein ve kolesterol metabolizmasını yüksek oranda taklit eden ve Alzheimer hastalığı ile yaşlanma ve beslenme arasındaki ilişkinin altında yatan mekanizmayı incelemek için de kullanılan ve transgenik olmayan kobaylar kullanılmıştır [222, 261-263].

24 adet, 2 aylık erkek Dunkin-Hartley kobayın kullanıldığı bir hastalık modeli çalışmasında kobaylara kalori kısıtlaması uygulanmıştır. Bu çalışma kapsamında araştırmacılar kobayları dört gruba ayırmış ve 3 ay boyunca birinci gruba *ad libitum* normal chow diyet, ikinci gruba kalori kısıtlamasının uygulandığı normal chow diyet, üçüncü gruba *ad libitum* yüksek yağlı diyet ve dördüncü gruba kalori kısıtlamasının uygulandığı yüksek yağlı diyet vermiştir. Çalışma sonunda birinci grubun nihai vücut ağırlıklarının diğer gruplardan anlamlı derecede daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Araştırmacılar tarafından laboratuvarda yetiştirilen ve *ad libitum* beslenen kobayların genellikle yaşla birlikte obez hale geldiği ve kendi kendilerine yüksek yağlı diyet tüketimini kısıtladıkları bildirilmiştir [264].

Çalışmamızda hem kontrol hem de deney grubundaki dişi ve erkek kobayların deney başlangıcındaki vücut ağırlıkları ile deney sonundaki vücut ağırlıkları zamana göre karşılaştırıldığında CF, CM, EF ve EM gruplarının vücut ağırlıkları anlamlı olarak arttı. Vücut ağırlıkları gruplara göre karşılaştırıldığında CM kontrol grubunun vücut ağırlığı CF kontrol grubu, EF deney grubu ve EM deney grubundan anlamlı olarak daha yüksekti. CF kontrol grubu, EF deney grubu ve EM deney grubu arasında vücut ağırlıkları açısından anlamlı bir fark bulunmadı. Bu durumun, kobayların genel fizyolojik özelliklerini de göz önünde bulundurarak çalışmamızın bulgular bölümünde açıklandığı gibi kobayları tartmadan önce randomize bir şekilde gruplara ayırmamızdan kaynaklanmış olabileceğini düşünüyoruz.

Yüksek yağlı diyet, toplam kalorinin en az %35'ini hem doymamış hem de doymuş formdaki yağlardan sağlayan bir diyettir [265]. Kısa ve uzun süreli yüksek yağlı diyetle beslenmenin, oksidatif stres nedeniyle beyinde dopaminerjik nöroplastisite değişikliği yoluyla ciddi kronik nöral hastalıklarla ilişkisi olduğu bildirilmiştir [266-270]. Yüksek yağlı diyetin çevresel toksinlere karşı daha fazla duyarlılık sağlayabileceği ve Parkinson hastalığı patogenezini hızlandırabileceği kaydedilmiştir [271, 272]. Yetişkin erkek C57BL/6 farelerin kullanıldığı bir çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin substantia nigra pars compacta bölgesindeki nöronlarda orta derecede dejenerasyon ve damarlarda hiperemi tespit edildiği rapor edilmiştir [273].

Çalışmamızda orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerinin histolojik olarak incelenebilmesi için H&E ve nötral red boyaması yapıldı. Kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen deney gruplarından olan EF grubunun H&E ile boyanan orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerine ait değerlendirmelerin kontrol grupları olan CF ve CM grupları ile benzer olduğu belirlendi; ancak EM grubunun orta beyin kesitlerinde perinöronal vakuolizasyon ve beyin korteksi kesitlerinde nükleer şişme varlığı diğer gruplara göre daha belirgindi. EM grubunun H&E ile boyanan beyincik kesitlerine ait değerlendirmelerin CF, CM ve EF grupları ile benzer olduğu belirlendi Ayrıca, nötral red boyaması sonucunda elde ettiğimiz bulgularla H&E boyaması sonucunda elde ettiğimiz bulgular uyumluydu.

PINK1 ve PARKIN sinyalleşmesi; mitofaji, mitokondriyal hareketlilik ve mitokondriyal büyüklükte kilit rol oynar. PINK1, hasarın/disfonksiyonun neden olduğu mitokondriyal

membran potansiyelindeki (ΔΨm) azalmaya yanıt olarak dış mitokondriyal membranda birikir. Bu durum PARKIN'i sitozolden dış mitokondriyal membrana çeker ve E3 aktivitesi mitokondriyal proteinlerin ubikuitinasyonu yoluyla mitofajiyi teşvik ederek mitokondriyal yıkıma yol açar. Kusurlu mitofaji ve PINK1/PARKIN sinyalleşmesi; Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve glokom gibi nörodejeneratif hastalıklarda mevcuttur [274-279].

Sağlıklı koşullar altında, mitokondri optimal, nispeten yüksek bir ΔΨm'ye sahiptir ve PINK1'i içe aktarıp işleyerek bozulmasına yol açar. Bununla birlikte, oksidatif stres gibi sağlıksız koşullar altında, düşük ΔΨm, PINK1'in mitokondriyal birikimine neden olarak sitoplazmadan PARKIN alımına ve mitofaji yolağı olan hasarlı mitokondrinin otofajik degradasyonunun başlamasına neden olur. Bu yolak, sırasıyla PINK1 ve PARKIN'in aracılık ettiği transkripsiyon sonrası modifikasyonlar olan fosforilasyon ve ubikuitinasyon tarafından yönetilir [280-284]. PINK1, PARKIN'i N-terminal ubikuitin benzeri alanının (Ubl) içindeki yüksek oranda korunmuş serin 65 (Ser65) kalıntısında ve ayrıca ubikuitinin (Ub) eşdeğer Ser65 kalıntısında doğrudan fosforile eder. PARKIN E3 ligaz aktivitesinin maksimal aktivasyonu için hem PARKIN hem de ubikuitinin fosforilasyonu gereklidir [285-289]. Aktivasyon üzerine PARKIN, dış mitokondriyal membranda birden fazla substratı ubikuitile ederek hem *de novo* birleşmeye hem de mevcut ubikuitin zincirlerinin uzamasına yol açar ve bunlar da PINK1 tarafından fosforile edilir. Tüm bunlar birlikte, mitofajinin tamamlanması için gerekli seçici otofaji adaptörlerinin görevlendirilmesini haber veren PARKIN aktivasyonu ve mitokondriyal ubikuitilasyonun ileri beslemeli bir artışını oluşturur [283, 290-292]. Birçok çalışmada; PINK1'in mitokondride, aktive edilmiş formunda otofosforile olduğu gösterilmiştir [293-296]. Çeşitli çalışmalarda üç farklı fosforilasyon bölgesi bulunmuştur: Ser228 (N lobdaki putatif düzenleyici sarmalın hemen yukarısında yer alır), Thr257 (N lobun ikinci ekinde yer alır) ve Ser402 (putatif kinaz aktivasyon segmentinde yer alır) [297]. Thr257'nin PARKIN alımı açısından PINK1 aktivitesi için gerekli olmadığı ancak Ser228 ve Ser402'nin PARKIN alımı için gerekli olduğu bulunmuştur; çünkü yapılan çalışmalarda bu pozisyonlardaki serin-alanin mutasyonlarının, karbonil siyanür m-klorofenil hidrazon (CCCP) kaynaklı hasar koşulları altında mitokondriye PARKIN alımını ortadan kaldırdığı bildirilmiştir [294, 296]. Bir çalışmada; fosfoSer228-PINK1'in, mitokondriye bağlı ubikuitin ve sitozolik PARKIN'i Ser65 üzerinde fosforile ederek PARKIN'i dış mitokondriyal membran proteinlerini ubikuitinleştirmek üzere görevlendirdiği ve aktive ettiği rapor edilmiştir [298].

3 aylık erkek C57BL/6J farelerin kullanıldığı bir çalışmada western blot analizi sonucunda chow diyet ile beslenen farelerle karşılaştırıldığında yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin substantia nigra bölgelerinde PARKIN'in azaldığı PINK1'in değişmediği tespit edilmiştir. PARKIN'deki azalmanın PARKIN mRNA ekspresyonuna bağlı olup olmadığını belirlemek için araştırmacılar tarafından qRT-PCR gerçekleştirilmiştir. Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin substantia nigra bölgelerinde PARKIN mRNA ekspresyonunda herhangi bir değişiklik bulunmamıştır. Ayrıca araştırmacılar yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin substantia nigra bölgelerindeki azalan PARKIN ekspresyonunun bölgeye özgü olup olmadığını belirlemek için striatum ve serebral korteksteki PARKIN ekspresyonunu değerlendirmiştir; ancak, western blot analizi sonucunda yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin striatum ve serebral korteks bölgelerinde PARKIN'in değişmediği saptanmıştır [299].

13 aylık erkek C57BL/6J farelerin kullanıldığı başka bir çalışmada western blot ve immünfloresan analizi sonucunda normal chow diyet ile beslenen farelerle karşılaştırıldığında yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin beyin dokularında PARKIN ve PINK1 seviyelerinin arttığı ve bu durumun mitokondriyal hasara işaret ettiği bildirilmiştir [300].

Özellikle insan kaynaklı dokularda PARKIN'in uzun süreli aşırı eksprese edilmesinin potansiyel zararlı etkisini incelemek için toksisite deneylerinin yapılması gerektiği düşünülmektedir [301]. NSC34 motor nöron benzeri hücrelerde PARKIN'in fazla miktarda eksprese edilmesinin, hücre toksisitesinde artışa yol açan mitokondriyal hasarın etkilerini şiddetlendirdiği belirlenmiştir; ancak yapılan farklı bir çalışmada, sıçanların substantia nigra bölgelerinde insan PARKIN'inin ekspresyonundaki artışın, dopaminerjik terminallerin ve hücre gövdelerinin 6-hidroksidopamin kaynaklı dejenerasyonunu önlediği ve motor davranışı iyileştirdiği bildirilmiştir [284, 302]. PINK1 ekspresyonundaki artışın, PARKIN'e bağımlı bir şekilde mitokondriyal kalite kontrolü arttırdığı tespit edilmiştir [284]. Bununla birlikte; kemirgen modellerinin Parkinson hastalarında görülen şiddetli nörodejenerasyonu tekrarlayamamasının nedeninin farelerde tespit edildiği gibi düşük PINK1 seviyelerinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir [303]. Bu çalışmalar ayrıca PINK1'den bağımsız mitofaji yolaklarının da henüz keşfedilmemiş olabileceğine işaret etmektedir [284].

Çalışmamızda, qRT-PCR analizi sonucunda gruplar karşılaştırıldığında EM deney grubundaki erkek kobayların beyin dokularında PARKIN ekspresyonunun arttığı ancak beyincik dokularında PARKIN ekspresyonu açısından gruplar arasında fark bulunmadığı tespit edildi. İmmünohistokimyasal analiz sonucunda orta beyin, beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki PARKIN ve fosfo-PARKIN (ser65) immün işaretlemeleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. Bu sonuçlar; kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen EM deney grubunun beyin dokularında PARKIN transkripsiyonunun pozitif feedback mekanizması ile indüklendiğini ve gruplar arasında hem PARKIN hem de fosfo-PARKIN (ser65) immün işaretlemeleri açısından farklılık olmamasına rağmen EM deney grubunda meydana gelen bu durumun mitokondriyal fonksiyonla ilişkili bir hasara işaret ettiğini düşündürmektedir. Diğer taraftan gruplar arasında orta beyin ve beyin korteksi kesitlerinde PARKIN ve fosfo-PARKIN (ser65) immün işaretlemeleri açısından farklılık olmaması, EM deney grubunda meydana gelen olası mitokondriyal hasar karşısında PARKIN fosforilasyonunu içeren mitofaji yolağının hemen aktifleştirilmemiş olabileceği şeklinde yorumlanmaktadır.

Bu çalışmada, qRT-PCR analizi sonucunda beyin ve beyincik dokularındaki PINK1 ekspresyonu açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. İmmünohistokimyasal analiz sonucunda gruplar karşılaştırıldığında EM deney grubundaki erkek kobayların orta beyin kesitlerinde PINK1 ve fosfo-PINK1 (ser228) immün işaretlemelerinin arttığı tespit edildi. Ayrıca; EM deney grubundaki erkek kobayların ve CF kontrol grubundaki dişi kobayların beyin korteksi kesitlerindeki PINK1 immün işaretlemesi diğer iki gruba göre daha fazlaydı. Bununla birlikte; beyin korteksi kesitlerindeki fosfo-PINK1 (ser228) immün işaretlemesi açısından kontrol grupları ile deney grupları arasında anlamlı fark bulunmadı. Beyincik kesitlerindeki PINK1 ve fosfo-PINK1 (ser228) immün işaretlemeleri açısından yapılan çoklu karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı; ancak genel olarak kontrol grubu (CG) ile deney grubu (EG) arasında ikili karşılaştırma yapıldığında fosfo-PINK1 (ser228) immün işaretlemesinin deney grubunda arttığı bulundu. Kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen EM deney grubunun orta beyin bölgesinde PINK1 ve fosfo-PINK1 (ser228) immün işaretlemelerinin birlikte artması, PARKIN aktivasyonuna ve mitokondriyal disfonksiyona işaret etmektedir. Beyin korteksi kesitlerinden elde edilen PINK1 immün işaretlemesi ve beyincik kesitlerinden elde edilen fosfo-PINK1 (ser228) immün işaretlemesi ile ilgili bulguların denetleyici veya protektif bir mekanizmadan kaynaklanabileceği tahmin edilmektedir.

Çalışmamızda; PARKIN, fosfo-PARKIN (ser65), PINK1 ve fosfo-PINK1 (ser228) ile ilgili sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde kolesterol içeren yüksek yağlı diyetin erkek kobaylarda bölgeye özgü bir şekilde nöronlarda mitokondriyal aktiviteyi etkilediği düşünülmektedir.

α-Sinüklein sinaptik iletimi modüle eder ve nöron uyarıldığında salınır [304, 305]. α-sinükleinopati, α-sinükleinin Lewy cisimcikleri şeklinde toplanması ve buna bağlı olarak dopaminerjik nöronların dejenerasyonu ile karakterize olan nörodejeneratif hastalıkları tanımlamaktadır [304, 306, 307]. α-Sinüklein, dokularda ve beyin omurilik sıvısında oligomer ve protofibril yapılarında toplanarak inflamatuar Lewy cisimciklerinin oluşumuna neden olan değiştirilebilir nörotoksik formları nedeniyle Parkinson hastalığının patofizyolojisinde en önemli role sahiptir [304].

Merkezi sinir sisteminde çoklu doymamış yağ asitlerinin yüksek penetrasyonu nedeniyle kapsamlı hasar meydana gelebilir [265]. Çoklu doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu ve yüksek malondialdehit, sinir sisteminde oksidatif stres ve serbest radikal aracılı hasara ve α-sinüklein nörotoksik oligomerlerinin oluşumunu indükleyen 4-okso-2-nominal ve 4-hidroksi-2-nonenal oluşumuna başlıca katkıda bulunan faktörlerdir [304, 308, 309]. Artan n-6 / n-3 çoklu doymamış yağ asitleri oranı endoplazmik retikulum stresine, AMP- kinazın fosforilasyonuna, mitokondriyal disfonksiyona neden olabilir [310]. Oksidatif strese bağlı reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu dopaminerjik nöronlarda α-sinüklein ekspresyonunu artırır, inflamatuar yanıt kinazlarını indükler, mikroglialarda lipit damlacıklarının birikmesini sağlar, lipit peroksidasyonunu tetikler ve mitokondriyal disfonksiyona neden olur [265]. Mitokondriyal işlev bozukluğu polo benzeri kinaz-2'yi gereğinden fazla aktive eder, fosfo-SNCA'yı (Ser129) ve α-sinükleinin defosforilasyonundan sorumlu olan proteinaz K dirençli SNCA enzimlerini yukarı regüle eder ve böylece Lewy cisimcikleri şeklinde protein agregasyonunu başlatır [311, 312]. Lewy cisimciği ve Lewy nörit inklüzyonları ağırlıklı olarak Parkinson hastalığı ve diğer Lewy cisimciği hastalıklarının ayırt edici özelliği olan hiper-fosforile ve çözünmeyen α-sinükleinden oluşur [313, 314]. α-Sinüklein nöronlarda bol miktarda bulunan bir proteindir ve minimal bir kısmı serin 129'da fosforile edilmiştir [314]. Buna karşılık, Parkinson hastalığı ve Lewy cisimciği hastalığına sahip kişilerin beyinlerinde, inklüzyonlardaki α-sinüklein'in %90'ından fazlasının fosforile olabileceği sanılmaktadır [315]. Serin 129'daki fosforilasyon normal α-sinüklein'i anormal α-sinüklein'den, özellikle de proteinli

inklüzyonlardaki α- sinüklein'den ayırmaktadır [314]. Fosforile-S129-α-sinüklein inklüzyon bolluğu Lewy cisimciği hastalıklarında nörodejenerasyon ve klinik fenotiplerle önemli ölçüde ancak kusurlu bir şekilde ilişkilidir [316-318]. α-Sinüklein inklüzyon bolluğunun doğru tespiti ve tahmini, birçok klinik öncesi ve patoloji çalışması için esastır [314].

21 günlük erkek C57BL/6J farelerin kullanıldığı farklı bir çalışmada, kontrol yağlı diyet ile beslenen farelerle karşılaştırıldığında yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin orta beyin dokularında α-sinüklein mRNA ekspresyon seviyelerinin arttığı rapor edilmiştir [319].

28 günlük erkek Wistar sıçanların kullanıldığı bir çalışmada western blot analizi sonucunda standart diyet ile beslenen sıçanlarla karşılaştırıldığında yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanların ventral tegmental alan ve substantia nigra bölgelerinde α-sinüklein seviyelerinin değişmediği bildirilmiştir [307].

Beyincikte dopaminerjik innervasyon ve dopamin D1-3 reseptörlerinin varlığı kanıtlanmıştır [320, 321]. Beyinciğin, ventral tegmental alan/substantia nigra pars compacta'dan dopaminerjik bir projeksiyon aldığı bilinmektedir [322-324]. Parkinson hastalarında ve hayvan modellerinde dopaminerjik dejenerasyonu takiben beyincikte patolojik değişikliklerin meydana geldiği bildirilmiştir [325]. α-Sinüklein, beyincik de dahil olmak üzere Parkinson hastalığı ile doğrudan ilişkili olmayan bölgelerde de mevcuttur [326]. Bir çalışmada, immünohistokimyasal incelemeler sonucunda bazı Parkinson hastalarında serebellar moleküler tabakada α-sinüklein pozitif yapıların tespit edildiği rapor edilmiştir [327]. Başka bir çalışmada, Parkinson hastalığı ile beyincikteki azalan α-synuclein mRNA seviyeleri arasında bir korelasyon olduğu bildirilmiştir [328]. Benzer şekilde farklı bir çalışmada da Parkinson hastalarının beyinciklerinde α-sinüklein protein seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir [329]. Erkek albino sıçanların kullanıldığı bir çalışmada, immünohistokimyasal incelemeler sonucunda Parkinson modeli oluşturulan grubun serebral korteks ve beyincik dokularındaki nöronlarda yoğun bir α-sinüklein immün işaretlemesi bulunduğu bildirilmiştir [330].

Çalışmamızda, qRT-PCR analizi sonucunda beyin ve beyincik dokularındaki SNCA ekspresyonu açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamasına rağmen EM deney grubunun beyin dokularında ve EF deney grubunun beyincik dokularında artış

gözlemlendi. İmmünohistokimyasal analiz sonucunda yapılan ikili karşılaştırmalarda EM deney grubundaki erkek kobayların orta beyin kesitlerindeki SNCA immün işaretlemesinin CM kontrol grubundaki erkek kobaylara göre arttığı tespit edildi. Bu artış, çoklu karşılaştırmalar kapsamında fark yaratmasa da p değerinin (p=0,058) anlamlılığa çok yakın olduğu dikkat çekti. Beyin korteksi kesitlerindeki SNCA immün işaretlemesi açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. EM deney grubundaki erkek kobayların beyincik kesitlerindeki SNCA immün işaretlemesinin arttığı gözlemlendi; ancak yapılan çoklu karşılaştırmalarda gruplar arasındaki fark anlamlı değildi.

Bu çalışmada, immünohistokimyasal analiz sonucunda kontrol gruplarına göre deney gruplarının orta beyin kesitlerindeki fosfo-SNCA (ser129) immün işaretlemesi artış gösterdi. Bu artışın erkek kobaylara göre dişi kobaylarda daha fazla olduğu belirlendi. Beyin korteksi kesitlerindeki fosfo-SNCA (ser129) immün işaretlemesi açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. EM deney grubundaki erkek kobayların beyincik kesitlerindeki fosfo-SNCA (ser129) immün işaretlemesinin arttığı gözlemlendi; ancak yapılan çoklu karşılaştırmalarda gruplar arasındaki fark anlamlı değildi.

Çalışmamızda, SNCA ve fosfo-SNCA (ser129) ile ilgili sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde; kolesterol içeren yüksek yağlı diyetin, dişi ve erkek kobayların orta beyin ve beyincik dokularında SNCA ve fosfo-SNCA (ser129) seviyerini etkilediği tespit edilmiştir. Bu durumun mitokondriyal disfonksiyona bağlı olarak geliştiği ve oksidatif strese neden olabileceği düşünülmektedir.

TH enzimi, dopaminerjik ve norepinefrin nöronları gibi katekolamin nöronlarında L-tirozinin L-DOPA'ya dönüşümünü katalize eder [253]. Beyinde, subtantia nigra ve locus coeruleus'ta bulunan ve TH içeren bu nöronlar, nöronal fonksiyonun sürdürülmesi için önemlidir [253]. Substantia nigrada TH pozitif nöronlar öncelikle dopaminerjik nöronlarıdır [253]. Deneysel çalışmalar, obez farelerin orta beyninde TH ekspresyonunda ve protein seviyelerinde azalma olduğunu göstermiştir [331, 332]. Obezitenin dopaminerjik sistem üzerindeki zararlı etkileri olduğu düşünülmesine rağmen bu süreçte yer alan mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır [307].

28 günlük erkek Wistar sıçanların kullanıldığı bir çalışmada western blot analizi sonucunda standart diyet ile beslenen sıçanlarla karşılaştırıldığında yüksek yağlı diyetle

beslenen sıçanların ventral tegmental alan bölgesinde TH seviyelerinin azaldığı ve substantia nigra bölgesinde TH seviyelerinin değişmediği bildirilmiştir [307].

Orta yaşlı 37 haftalık erkek Wistar-Kyoto sıçanların 30 hafta boyunca normal diyet veya yüksek yağlı diyet ile beslendiği bir çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanların substantia nigra bölgesindeki TH seviyelerinde ve TH pozitif dopaminerjik nöron sayısında azalma meydana geldiği rapor edilmiştir [253].

3 aylık erkek C57BL/6J farelerin kullanıldığı bir çalışmada subtantia nigra bölgesindeki TH pozitif olan dopaminerjik nöronların optik yoğunluğu açısından, 8 hafta ve 20 hafta yüksek yağlı diyetle beslenen fareler ile chow diyetle beslenen kontrol fareler karşılaştırılmış ve çalışma sonunda chow diyetle beslenen farelere kıyasla 20 hafta yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin subtantia nigra bölgesinde hafif dopaminerjik nöron dejenerasyonu tespit edildiği bildirilmiştir [299].

Yapılan bir çalışmada, kronik yüksek yağlı diyetle indüklenen obeziteye sahip fareler ile obeziteye dirençli farelerde beyin TH mRNA ekspresyon seviyeleri ölçülmüştür. Çalışma sonunda, obeziteye dirençli farelere kıyasla kronik yüksek yağlı diyetle indüklenen obeziteye sahip farelerin ventral tegmental alan ve locus caeruleus bölgelerinde TH mRNA ekspresyon seviyelerinin önemli ölçüde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [333].

İmmünohistokimyasal analiz sonucunda gruplar karşılaştırıldığında EM deney grubundaki erkek kobayların orta beyin kesitlerinde TH immün işaretlemesinin kontrol gruplarına göre anlamlı olarak arttığı tespit edildi. Beyin korteksi ve beyincik kesitlerindeki TH immün işaretlemesi açısından yapılan çoklu karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. Kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen EM deney grubunun orta beyin bölgesinde TH immün işaretlemesinin artması beklemediğimiz bir durumdu; çünkü dopamin sentezinde çok önemli bir enzim olan TH'nin Parkinson hastalığında veya Parkinson hastalığına yol açabilecek koşullar altında azaldığını gösteren çalışma sayısı oldukça fazladır [334-336]. Bununla birlikte kısa zincirli yağ asitlerinin TH ekspresyonunu cAMP'ye bağlı bir mekanizma ile arttırdığı gösterilmiştir, uzun zincirli doymuş ve doymamış yağ asitlerinin rolü ise henüz belirlenmemiştir [337-339]. Örneğin 3 ay boyunca doymuş serbest yağ asidi palmitik asit ile zenginleştirilmiş diyetle beslenen farelerin beyinlerinde α-sinüklein ve TH seviyelerinin ölçüldüğü bir çalışmanın sonunda; palmitik

asit ile zenginleştirilmiş diyetin, Parkinson hastalığı için model olan m-Thy1 transgenik farelerde hem α-sinüklein hem de TH protein ve mRNA ekspresyon seviyelerinde bir artışa neden olduğu ve vahşi tip B6D2 farelerde dopamin metabolitlerini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir [339]. Çalışmamızda kullandığımız kolesterol içeren yüksek yağlı diyet, yağ hurması çekirdeği yağı (palm kernel oil) içermektedir ve bu yağda palmitik asit bulunur. Bu yüzden kolesterol içeren yüksek yağlı diyetin etkisi ile EM deney grubundaki erkek kobayların orta beyin kesitlerinde TH immün işaretlemesi artmış olabilir; ancak kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen EF deney grubundaki dişi kobayların orta beyin kesitlerinde TH immün işaretlemesi ile kontrol grupları kıyaslandığında anlamlı fark bulunmadığı unutulmamalıdır. Bu durumda kolesterol içeren yüksek yağlı diyetin etkisi ile EM deney grubundaki erkek kobayların orta beyin kesitlerindeki artan TH immün işaretlemesi, mitokondriyal hasara karşı nöronlarda aktifleşen protektif bir mekanizmaya işaret edebilir. Palmitik asit ile TH ekspresyonu arasındaki mekanizmanın aydınlatılması, Parkinson hastalığı ile ilişkili tedaviler için önemli olabilir.

Beyindeki kolesterol, post-sinaptik spinler ve pre-sinaptik veziküller de dahil olmak üzere çok sayıda akson dendriti ve sinapsın membran yüzeyini oluşturur [340-342]. Beyin, büyük miktarda membran oluşturarak yüksek bir alan ve hacim kaplayan nöronlar ve glial hücrelerden oluşur bu nedenle kolesterol gereksinimi çok yüksektir [343]. Beyin gelişimi ve işlevi için iş birliği yapması gereken nöron ve glial hücrelerde kolesterol metabolizması önemlidir ve başka reseptörlerle etkileşime giren LDLR, kolesterol sentezi ve döngüsünün düzenlenmesinde önemli bir rol oynar [344]. Nöronlarda kolesterol azalmasının sinaptik vezikül ekzositozunu, sinir aktivitesini ve nörotransmisyonu bozarak dendritik omurga ve sinaptik dejenerasyona yol açtığı belirtilmiştir [345-347]. Ayrıca, kolesterol metabolizmasındaki kusurlarının Huntington, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi MSS hastalıklarına yol açtığı rapor edilmiştir [348-350].

LDLR, merkezi sinir sisteminde Apo E için önemli bir reseptördür [351]. Alzheimer hastalığına neden olduğu bilinen Aβ'nın beyinde plaklar halinde biriktiği ve Apo E için reseptörler tarafından düzenlendiği varsayılmaktadır [352-354]. Apo E ve Aβ alımını indükleyen LDLR, astrositlerde eksprese edilir ve LDLR'yi aşırı eksprese eden farelerde Apo E seviyelerini azaltarak Aβ birikimini önlediği bildirilmiştir [355, 356]. Transgenik hayvanlarda, beyin LDLR eksikliğinin, bilişsel gerileme veya artan oksidatif stres seviyeleri gibi Alzheimer hastalığında meydana gelenlere benzer süreçlere neden

olabileceği belirtilmiştir [357-360]. Apo B-100 transgenik farelerin lipoprotein profilinin vahşi tip kontrollerden önemli ölçüde farklı olduğu görülmüş ve 6 aylık transgenik hayvanlarda Apo A seviyesinde azalma, Apo E ve LDLR seviyelerinde artış tespit edilmiştir [260].

Model sistemlerde, yüksek beyin kolesterol seviyesinin Parkinson hastalık fenotipini ağırlaştırdığı bildirilmiştir [10]. Çok işlevli bir protein olan ve otozomal resesif ailesel Parkinson hastalığı ile ilişkili bir gen ürünü olan DJ-1'in de kolesterol metabolizması ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir [10, 361]. Astrositlerde DJ-1 eksikliğinin hücresel kolesterol seviyesinde azalmaya, membran akışkanlığında artışa ve lipid raflarına bağlı endositozda azalmaya neden olduğu saptanmıştır [362, 363]. Buna ek olarak, kolesterol desteğinin, DJ-1 eksikliği olan nöronlarda gözlenen sinaptik endositik kusurları iyileştirdiği görülmüştür [364]. DJ-1 ekliği olan hücrelerde ve DJ-1 knockout farelerde LDLR mRNA ve protein ekspresyonunda azalma gözlenmiştir [365]. Lösin bakımından zengin tekrar kinaz 2 (LRRK2) knockout sıçanlarda plazma kolesterol seviyesinin yükseldiği de bildirilmiştir [366]. Ayrıca, PARKIN, PINK1, DJ-1, LRRK2 ve ubikuitin karboksi terminal hidrolaz L1'in (UCH-L1) in vitro modellerde lipid rafları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [362, 367-370].

Çalışmamızda, qRT-PCR analizi sonucunda beyin ve beyincik dokularındaki LDLR ekspresyonu açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamasına rağmen kontrol gruplarına göre deney gruplarında artış gözlemlendi. İmmünohistokimyasal analiz sonucunda orta beyin ve beyin korteksi kesitlerindeki LDLR immün işaretlemeleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. EM deney grubundaki erkek kobayların beyincik kesitlerindeki LDLR immün işaretlemesinin arttığı gözlemlendi ve yapılan çoklu karşılaştırmalarda gruplar arasındaki fark anlamlı bulundu. Kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen EM grubundaki erkek kobayların orta beyin ve beyincik kesitlerine ait immünohistokimyasal bulgular kontrol gruplarıyla kıyaslandığında kolesterol içeren yüksek yağlı diyetin orta beyin bölgesini daha fazla etkilediği tespit edildi. EM grubunda beyincik dokusunun kolesterol içeren yüksek yağlı diyetten daha az etkilenmesinin sebebinin, artan LDLR'nin koruyucu bir etki meydana getirmiş olabileceği düşünülmektedir.

Kobaylarda, zincir uzunluğu ve doygunluk derecesi bakımından farklılık gösteren yağ asitlerinin kolesterol ve lipoprotein metabolizması üzerindeki etkileri incelenmiştir [222]. Besinsel yağ asitleri tarafından modüle edilen lipoprotein metabolizmasının birçok bileşeni plazma LDL seviyelerinde gözlenen değişiklikleri açıklamaktadır [222]. Örneğin, yağ hurması çekirdeği yağı (palm kernel oil) içeren diyetle beslenen kobayların en yüksek apo B salgılama oranına sahip olduğu görülmüştür [371]. Buna ek olarak; yağ hurması çekirdeği yağı (palm kernel oil), domuz yağı veya mısır yağı (corn oil) içeren diyetlerle beslenen kobaylarda, metabolik etkileri olabilecek LDL bileşiminde önemli farklılıklar gözlendiği bildirilmiştir [222]. Statinler, kan kolesterolünü düşürmek için yaygın olarak kullanılmaktadır [372]. Yüksek yağ (%15) ve kolesterol (%0,04) ile beslenen kobaylarda, bir statin olan atorvastatinin etkileri incelenmiş ve artan atorvastatin (1-20 mg/kg) ile birlikte plazma LDL ve apo B seviyelerinde doza bağlı bir düşüş ortaya çıktığı tespit edilmiştir [372]. Ayrıca apo B/E reseptör ekspresyonlarının artan atorvastatin dozları ile yükseldiği bildirilmiştir [373]. Benzer bir çalışma, atorvastatinin etkilerini başka bir statin olan simvastatin ile karşılaştırmış ve her iki statinin de sadece küçük farklılıklar ile plazma apo B'sini, hepatik serbest kolesterol seviyelerini ve LDL partiküllerinin oksidasyona karşı duyarlılığını azalttığını göstermiştir [374]. Bununla birlikte; LDL partiküllerinin neredeyse tek apolipoproteini olan apo B'deki genetik varyasyonun, diyete verilen yanıtın değiştirilmesinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir [375]. Serum lipid konsantrasyonlarının yanıtındaki değişkenliğin, LDL ve apo B üretim oranının diyet kolesterolüne olan duyarlılığı ile doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir. [376] Ayrıca, apo B genindeki polimorfizmlerin plazma total ve LDL-kolesterol konsantrasyonları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [377-380].

İnsanlarda 600-2500 mg kolesterol/gün'e eşdeğer olan %0,08, %0,17 veya %0,33 diyet kolesterolünün plazma lipidleri, lipoprotein bileşimi, hepatik LDL reseptörleri ve HDL metabolizması üzerindeki etkileri kobaylarda değerlendirilmiş ve artan diyet kolesterol konsantrasyonlarının, LDL fraksiyonu ile ilişkili plazma kolesterolünde doza bağlı bir artışa neden olduğu ve bu artışın diyet yağ seviyesinden bağımsız meydana geldiği tespit edilmiştir [222, 239, 381, 382]. Ayrıca diyet kolesterol konsantrasyonu arttıkça karaciğerdeki kolesterol miktarının da doza bağlı bir şekilde arttığı görülmüştür [239]. Bununla birlikte, diyet kolesterol miktarı artarken hepatik LDL reseptör sayısının azaldığı bildirilmiştir [381]. Bazı çalışmalarda kobaylara verilen kolesterol miktarının %1-2 olduğu, bu değerlerin de insanlarda 7500-15.000 mg kolesterol/gün'e denk geldiği ve bu

çalışmalar kapsamında elde edilen sonuçların yorumlanırken klinik geçerliliklerinin olmadığına dikkat edilmesi gerektiği rapor edilmiştir [222].

Diyetin lipoprotein konsantrasyonu ve metabolizması üzerindeki etkilerini belirlemek için çeşitli hayvan modelleri kullanılmıştır [222]. Bu çalışmaların bazılarının yorumlanmasında dikkatli olunmalıdır; çünkü hayvan türleri plazma kolesterolünün lipoproteinler arasındaki dağılımında büyük farklılıklar gösterebilir ve insanlardan tamamen farklı olabilir [383]. Bununla birlikte, insanlarda LDL konsantrasyonlarını değiştiren diyet değişiklikleri ve ilaç tedavisi kobaylarda da benzer değişikliklere yol açmaktadır [384-386]. Kobaylar kolesterollerinin çoğunu LDL'de taşıdıkları için bu bulgunun şaşırtıcı olmadığı düşünülmektedir [222]. HDL, kobay plazmasında düşük konsantrasyonlarda bulunur [387-389]. Apo A-I, kobay HDL'sindeki başlıca apolipoproteindir [390, 391]. Bileşiminde bazı farklılıklar olmasına rağmen, kobay apo A-I'in, insan plazmasından elde edilen saflaştırılmış LCAT'yi aktive etmek için insan apo A-I kadar güçlü olduğu bildirilmiştir [391]. Diyet ve ilaç manipülasyonunun kobaylarda plazma HDL konsantrasyonlarını değiştirdiği gösterilmiştir [222]. Bu hayvanlarda %0,33 diyet kolesterolü alımının plazma HDL'yi önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir [382].

Baskın anabolik hormon olan insülin, diyetle alınan karbonhidrata yanıt olarak pankreastan salınır ve insülin salınımı dokularda glikoz alımı ve depolanması ihtiyacına işaret eder [392]. Karaciğerde, yeni biriken glikozun depolanması, glikojenez olarak adlandırılan bir süreçte serbest glikoz moleküllerinin enzimatik olarak büyük glikojen polimerlerine dönüştürülmesi yoluyla gerçekleştirilir [392]. Karbonhidrat alımı sonunda hepatik glikojen depolama kapasitesini aşarsa, glikolitik yoldaki glikoz bunun yerine trigliseritlerin dönüştürülmesi ve üretimi için enerjik olarak pahalı olan lipojenik yola yönlendirilir [392]. Bu anabolik ortam, hepatositlerden dolaşıma nihai çıkış için yeni sentezlenen lipitlerin küresel VLDL makromoleküllerine dahil edilmesi ve bir araya getirilmesiyle sonuçlanır [392].

Yapılan bir çalışmada, düşük karbonhidratlı (günde 20 g'dan az karbonhidrat) ketojenik diyetin alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalarında 6 aylık bir süre içinde yağlanmayı, enflamasyonu ve fibrozu azalttığı, kilo kaybına eşlik ettiği ve plazma insülin ve glikoz seviyelerini düşürdüğü bulunmuştur [393].

20 adet, 18 aylık erkek Hartley kobayın kullanıldığı bir çalışmada, araştırmacılar kobayları dört gruba ayırmış ve 12 hafta boyunca birinci gruba standart diyet, ikinci gruba düşük karbonhidratlı diyet ve üçüncü gruba yüksek karbonhidratlı diyet vermiştir. Çalışma sonunda gruplar arasında kobayların vücut ağırlığı, plazma total kolesterolü, HDL konsantrasyonu ve plazma glukozu bakımından fark bulunmadığı ancak düşük karbonhidratlı diyetle beslenen kobaylara göre yüksek karbonhidratlı diyetle beslenen kobaylarda LDL konsantrasyonunun daha yüksek olduğu bildirilmiştir [392].

Çalışmamızda; serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B miktarı ELISA ile belirlendi. Bunun sonucunda gruplar karşılaştırıldığında serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B miktarı açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. Serum örneklerindeki CHOL, GLU, HDL ve LDL seviyeleri belirlendi ve sonuçlara göre gruplar karşılaştırıldığında kontrol grupları olan CF ve CM gruplarına göre deney grupları olan EF ve EM gruplarında CHOL ve LDL seviyelerinin anlamlı olarak arttığı tespit edildi. Kontrol gruplarına göre deney gruplarında HDL seviyesi de daha yüksekti ve yapılan çoklu karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı fark bulundu. Serum örneklerinde ölçülen GLU seviyesi CF ve EF (kontrol ve deney gruplarından olan dişi kobaylar) gruplarına göre CM ve EM (kontrol ve deney gruplarından olan erkek kobaylar) gruplarında daha yüksekti. Kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen EM deney grubunda GLU seviyesindeki artış beklenen bir durumdu zira en yüksek CHOL ve LDL seviyeleri EM grubunda görüldü. Bununla birlikte, kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen EF deney grubunda da dislipidemi ile ilişkili biyokimyasal sonuç elde edildi ve bu yüzden EF deney grubunun GLU seviyesi CM ve EM gruplarına göre düşük olmasına rağmen aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olması şaşırtıcı değildi. Standart chow diyetle beslenen CM kontrol grubunun GLU seviyesindeki artış ile vücut ağırlıklarındaki artış arasında bağlantı olduğu ve bunun laboratuvarda yetiştirilen kobayların fizyolojik özelliklerinden de kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Parkinson hastalığının risk faktörleri olarak farklı kan lipid fraksiyonları tanımlanmıştır [230]. Bir çalışmada, ELISA ile belirlenen serum Apo B ve HDL seviyelerinin kontrol grubuna göre Parkinson hastalarında anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte aynı çalışmada serum HDL seviyeleri, Parkinson hastalarında Hoehn-Yahr ölçeği ile korelasyon göstermiştir [394].

Yapılan çalışmalarda, genetik olarak belirlenmiş kolesterol seviyeleri ile Parkinson hastalığı riski arasında nedensel bir ilişki olup olmadığı araştırılmıştır [395]. Bu çalışmalardan birinde düşük LDL kolesterol seviyelerinin Parkinson hastalığı riski üzerinde nedensel bir etkiye sahip olmadığı bildirilmiştir [396]. Farklı bir çalışmada da benzer şekilde LDL kolesterolün Parkinson hastalığı riski üzerinde nedensel bir etkisi olduğuna dair kanıt elde edilmemiştir [397]. Başka bir çalışmanın sonunda daha yüksek toplam kolesterol, LDL kolesterol ve TG düzeylerinin gelecekte daha düşük Parkinson hastalığı riski ile ilişkili olduğu ve bu ilişkilerin nedensel olabileceği rapor edilmiştir. Bu çalışmada ayrıca daha yüksek apo B düzeylerinin de daha düşük Parkinson hastalığı riski ile ilişkili olduğu fakat bu ilişkinin nedensel olup olmadığının incelenmesi gerektiği bildirilmiştir [228]. 2020 yılında yayımlanmış bir çalışmada LDL kolesterol, trigliseridler ve apo B ile Parkinson hastalığı riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmamış fakat apo B seviyelerinde meydana gelen değişikliğin Parkinson hastalığı riski üzerinde bir etki oluşturabileceği rapor edilmiştir [398].

Çalışmamızda orta beyin kesitlerindeki LDLR immün işaretlemesi ile beyin dokusundaki apo B seviyesi arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki bulunurken TH immün işaretlemesi ile beyin ve beyincik dokusundaki apo B seviyesi arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi. Beyin korteksi kesitlerindeki fosfo-PARKIN immün işaretlemesi ile beyin dokusundaki apo B seviyesi arasında güçlü düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi. Beyincik kesitlerindeki immün işaretlemeler ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi. Beyin ve beyincik dokularında PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi.

Bu çalışmada serumdaki CHOL seviyesi ile orta beyin kesitlerindeki SNCA ve fosfo-SNCA immün işaretlemeleri arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edilirken fosfo-PINK1 ve TH immün işaretlemeleri arasında güçlü düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi. Serumdaki LDL seviyesi ile orta beyin kesitlerindeki SNCA, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edilirken fosfo-PINK1 immün işaretlemesi arasında güçlü düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi. Serumdaki HDL seviyesi ile orta beyin kesitlerindeki SNCA, fosfo-SNCA, fosfo-PINK1 ve TH immün işaretlemeleri arasında güçlü düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi. Orta

beyin kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki GLU seviyesi arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi. Beyin korteksi kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi. Beyincik kesitlerindeki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, LDLR, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve TH immün işaretlemeleri ile serumdaki CHOL, LDL ve HDL seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi. GLU seviyesi ile beyincik kesitlerindeki LDLR immün işaretlemesi arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki bulundu. Beyin dokularındaki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi. Beyincik dokularındaki PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA ve LDLR genlerinin ekspresyon seviyeleri ile serumdaki CHOL, LDL ve GLU seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi; ancak beyincik dokusundaki LDLR geninin ekspresyon seviyesi ile serumdaki HDL seviyesi arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi.

Çalışmamızda serumdaki CHOL, LDL, HDL ve GLU seviyeleri ile serum ve beyindeki apo B seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi. Serumdaki CHOL, LDL ve HDL seviyeleri ile beyincikteki apo B seviyeleri arasında anlamlı korelasyon ilişkisi tespit edilmedi. Serumdaki GLU seviyesi ile beyincikteki apo B seviyesi arasında güçlü düzeyde negatif anlamlı ilişki tespit edildi. Serumdaki CHOL seviyesi ile LDL ve HDL seviyeleri arasında güçlü düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi. Serumdaki LDL seviyesi ile HDL seviyesi arasında güçlü düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi. Beyindeki apo B seviyesi ile beyincikteki apo B seviyesi arasında zayıf düzeyde pozitif anlamlı ilişki tespit edildi.

Korelasyon bulguları değerlendirildiğinde çalışmamızın sonunda Parkinson hastalığının nörodejenerasyon yolağında önemli bir rolü olan PARKIN, PINK1 ve SNCA genleri ile apo B proteini arasında korelasyon bulunmamasına rağmen bu genlerin ekspresyon mekanizmalarının kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle değiştiği görülmüştür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız bu çalışma ile; standart chow diyet ve kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen dişi ve erkek kobaylarda, Parkinson hastalığı ile ilişkili olan PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1) ve SNCA genlerinin ekspresyonlarıyla apo B reseptörü olan LDLR geninin ekspresyonu qRT-PCR yöntemi kullanılarak değerlendirildi ve LDLR, PARK2 (PARKIN), PARK6 (PINK1), SNCA, fosfo-PARKIN, fosfo-PINK1, fosfo-SNCA ve tirozin hidroksilaz protein yoğunluklarının belirlenebilmesi için immünohistokimyasal işaretleme yapıldı. Apo B miktarı serumda, beyin ve beyincik dokularında ELISA ile kantitatif olarak belirlendi ve serum CHOL, GLU, HDL ve LDL miktarı ölçüldü. Lipid metabolizması ve Parkinson hastalığı arasındaki ilişkinin incelendiği hayvan çalışmalarında çoğunlukla erkek hayvanların kullanılması dikkat çekmiştir. Bu yüzden çalışmamızda hem dişi hem de erkek kobayları kullanarak cinsiyet farklılığından kaynaklanan metabolik cevaplar göz önünde bulundurularak elde edilen veriler cinsiyet açısından da karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

Çalışmamızın sonunda histokimyasal bulgular incelendiğinde diğer gruplara göre kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen erkek kobayların bulunduğu EM grubunun orta beyin ve beyin korteksi kesitlerindeki nöronal dejenerasyon daha belirgindi; ayrıca EM grubunun beyin dokularındaki PARKIN ekspresyonunun ve özellikle orta beyin kesitlerindeki PINK1, fosfo-PINK1, SNCA, fosfo-SNCA ve TH yoğunluğunun arttığı bulundu.

Bu çalışmada serum, beyin ve beyincik dokularındaki apo B miktarına ait ELISA bulguları değerlendirildiğinde apo B miktarı her ne kadar diğer gruplara göre kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen EM deney grubunun serum ve beyin dokusunda artmış olsa da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Serum örneklerinde ölçülen CHOL, GLU, HDL ve LDL seviyelerine ait bulgular değerlendirildiğinde standart chow diyetle beslenen kontrol gruplarına göre kolesterol içeren yüksek yağlı diyetle beslenen deney gruplarında CHOL, LDL ve HDL seviyelerinin anlamlı olarak arttığı görüldü. Serum örneklerinde ölçülen GLU seviyesinin diyet çeşidinden bağımsız bir şekilde dişi kobaylara göre erkek kobaylarda daha yüksek olduğu tespit edildi.

Çalışmamızda qRT-PCR analizi, ELISA ve immünohistokimyal işaretleme sonucunda elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde PARKIN, PINK1 ve SNCA proteinleri ile apo B proteini arasında korelasyon bulunmadı; ancak LDLR, TH ve fosfo-PARKIN proteinleri ile apo B proteini arasında korelasyon tespit edildi. CHOL ve LDL seviyesi ile SNCA proteini arasında korelasyon bulundu. HDL seviyesi ile LDLR ve SNCA proteinleri ve GLU seviyesi ile LDLR proteini arasında korelasyon tespit edildi.

Literatürde lipid metabolizması ve Parkinson hastalığı arasındaki ilişkinin incelendiği çalışma sayısı az ve tutarsızdır. Bu konu ile ilgili hayvan çalışmalarında kullanılan yabanıl tipteki ve transgenik hayvanlar genellikle fare ya da sıçanlardır. Söz konusu hayvanların lipid profili insanlarınkinden oldukça farklıdır. Diğer taraftan literatürdeki Parkinson hastalığı model araştırmalarında kobayların kullanıldığı çalışma sayısı da çok azdır; çünkü model sistemler genellikle klinik semptomların izlenmesine ve iyileştirilmesine yönelik oluşturulmaktadır; ancak kobaylar karakteristik olarak ürkek ve saklanma eğilimi gösteren hayvanlar oldukları için motor semptomların izlenmesi zor olabileceğinden ilk sıralarda yer almamaktadırlar. Bunlar göz önüne alındığında bizim çalışmamız her ne kadar Parkinson hastalık modeli oluşturulmadığı için bir ön çalışma gibi nitelendirilebilecek olsa da Parkinson hastalığının sonuçlarından ziyade nedenleriyle ilgilendiğimiz için yaptığımız araştırmanın lipid metabolizması ile Parkinson hastalığı arasındaki olası ilişkinin incelenmesi açısından kobayların doğal fizyolojiye sahip bir hayvan modeli olarak değerlendirilmesine katkı sağlayacağını ve özellikle moleküler anlamda klinik semptomlar ortaya çıkmadan önleyici ya da erken tanıya yönelik daha kapsamlı çalışmaların yapılmasına öncülük edeceğini öngörüyoruz.

Sonuç olarak çalışmamızda, kolesterol içeren yüksek yağlı diyetin erkek kobaylarda bölgeye özgü bir şekilde mitokondriyal disfonksiyonu tetiklediği ve Parkinson hastalığının nörodejenerasyon yolağında yer alan başta PARKIN olmak üzere PINK1 ve SNCA genlerinin de ekspresyon mekanizmalarını değiştirdiği gösterildi. Bundan dolayı çalışmamızın sonucunda; kolesterol içeren yüksek yağlı diyetin etkileri, örneklem sayısı arttırılarak ve gruplara Parkinson hastalığı model grubu dahil edilerek aynı parametreler ile değerlendirilmesi ve apo B proteini ile TH proteini arasındaki korelasyonun nedensel olup olmadığının araştırılması önerilmektedir. Ayrıca karbonhidrat metabolizması, beyincik dokusu ve nörodejeneratif hastalıklar arasındaki ilişkinin detaylı bir şekilde incelenmesi gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Jo, D. S., and Cho, D. H. (2019). Peroxisomal dysfunction in neurodegenerative diseases. *Archives of Pharmacal Research,* 42, 393-406.

2. Allen Reish, H. E., and Standaert, D. G. (2015). Role of α-synuclein in inducing innate and adaptive immunity in Parkinson disease. *Journal of Parkinson's disease,* 5(1), 1-19.

3. Akbayır, E., Şen, M., Ay, U., Şenyer, S., Tüzün, E., ve Küçükali, C. İ. (2017). Parkinson hastalığının etyopatogenezi. *Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 7(13), 1-23.

4. Dexter, D. T., and Jenner, P. (2013). Parkinson disease: from pathology to molecular disease mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine,* 62, 132-144.

5. Ramasamy, I. (2014). Recent advances in physiological lipoprotein metabolism. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM),* 52(12), 1695-1727.

6. Feingold, K. R. (2021). *Introduction to lipids and lipoproteins.* https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK305896/

7. Liu, T., Chen, J. M., Zhang, D., Zhang, Q., Peng, B., Xu, L., and Tang, H. (2021). ApoPred: identification of apolipoproteins and their subfamilies with multifarious features. *Frontiers in Cell and Developmental Biology,* 8, 621144.

8. Aguie, G. A., Rader, D. J., Clavey, V., Traber, M. G., Torpier, G., Kayden, H. J., Brewer Jr., H. B., Castro, G., and Castro, G. (1995). Lipoproteins containing apolipoprotein B isolated from patients with abetalipoproteinemia and homozygous hypobetalipoproteinemia: identification and characterization. *Atherosclerosis,* 118(2), 183-191.

9. Olson, R. E. (1998). Discovery of the lipoproteins, their role in fat transport and their significance as risk factors. *The Journal of nutrition,* 128(2), 439S-443S.

10. Jin, U., Park, S. J., and Park, S. M. (2019). Cholesterol metabolism in the brain and its association with Parkinson's disease. *Experimental neurobiology*, 28(5), 554.

11. Frank, S., and Kostner, G. (2012). *Lipoproteins-Role in Health and Diseases.* Croatia: IntechOpen, 533-560.

12. Abbott, N. J., Patabendige, A. A., Dolman, D. E., Yusof, S. R., and Begley, D. J. (2010). Structure and function of the blood–brain barrier. *Neurobiology of disease*, 37(1), 13-25.

13. Fanning, A. S., and Anderson, J. M. (2009). Zonula occludens-1 and-2 are cytosolic scaffolds that regulate the assembly of cellular junctions. *Annals of the new York Academy of Sciences*, 1165(1), 113-120.

14. Banks, W. A., Kovac, A., and Morofuji, Y. (2018). Neurovascular unit crosstalk: Pericytes and astrocytes modify cytokine secretion patterns of brain endothelial cells. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism,* 38(6), 1104-1118.

15. Rochfort, K. D., and Cummins, P. M. (2015). The blood–brain barrier endothelium: a target for pro-inflammatory cytokines. *Biochemical Society Transactions,* 43(4), 702-706.

16. Sweeney, M. D., Sagare, A. P., and Zlokovic, B. V. (2018). Blood–brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Neurology,* 14(3), 133-150.

17. Muñoz-Fernández, M. A., and Fresno, M. (1998). The role of tumour necrosis factor, interleukin 6, interferon-γ and inducible nitric oxide synthase in the development and pathology of the nervous system. *Progress in neurobiology,* 56(3), 307-340.

18. Incalza, M. A., D'Oria, R., Natalicchio, A., Perrini, S., Laviola, L., and Giorgino, F. (2018). Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascular pharmacology,* 100, 1-19.

19. Dias, H. I., Brown, C. L., Polidori, M. C., Lip, G. Y., and Griffiths, H. R. (2015). LDL-lipids from patients with hypercholesterolaemia and Alzheimer's disease are inflammatory to microvascular endothelial cells: mitigation by statin intervention. *Clinical Science,* 129(12), 1195-1206.

20. Park, J. H., Hong, K. S., Lee, E. J., Lee, J., and Kim, D. E. (2011). High levels of apolipoprotein B/AI ratio are associated with intracranial atherosclerotic stenosis. *Stroke,* 42(11), 3040-3046.

21. Turan, T. N., Makki, A. A., Tsappidi, S., Cotsonis, G., Lynn, M. J., Cloft, H. J., and Chimowitz, M. I. (2010). Risk factors associated with severity and location of intracranial arterial stenosis. *Stroke,* 41(8), 1636-1640.

22. Bowman, G. L., Kaye, J. A., and Quinn, J. F. (2012). Dyslipidemia and blood-brain barrier integrity in Alzheimer's disease. *Current gerontology and geriatrics research,* 2012.

23. Chattopadhyay, R., Dyukova, E., Singh, N. K., Ohba, M., Mobley, J. A., and Rao, G. N. (2014). Vascular endothelial tight junctions and barrier function are disrupted by 15 (S)-hydroxyeicosatetraenoic acid partly via protein kinase Cϵ-mediated zona occludens-1 phosphorylation at threonine 770/772. *Journal of Biological Chemistry,* 289(6), 3148-3163.

24. Eiselein, L., Wilson, D. W., Lamé, M. W., and Rutledge, J. C. (2007). Lipolysis products from triglyceride-rich lipoproteins increase endothelial permeability, perturb zonula occludens-1 and F-actin, and induce apoptosis. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 292(6), H2745-H2753.

25. Wang, L., Sapuri-Butti, A. R., Aung, H. H., Parikh, A. N., and Rutledge, J. C. (2008). Triglyceride-rich lipoprotein lipolysis increases aggregation of endothelial cell membrane microdomains and produces reactive oxygen species. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 295(1), H237-H244.

26. Antonios, N., Angiolillo, D. J., and Silliman, S. (2008). Hypertriglyceridemia and ischemic stroke. *European neurology*, 60(6), 269-278.

27. Klafke, J. Z., Porto, F. G., Batista, R., Bochi, G. V., Moresco, R. N., da Luz, P. L., and Viecili, P. R. N. (2015). Association between hypertriglyceridemia and protein oxidation and proinflammatory markers in normocholesterolemic and hypercholesterolemic individuals. *Clinica Chimica Acta*, 448, 50-57.

28. Lee, L. L., Aung, H. H., Wilson, D. W., Anderson, S. E., Rutledge, J. C., and Rutkowsky, J. M. (2017). Triglyceride-rich lipoprotein lipolysis products increase blood-brain barrier transfer coefficient and induce astrocyte lipid droplets and cell stress. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 312(4), C500-C516.

29. Jais, A., Solas, M., Backes, H., Chaurasia, B., Kleinridders, A., Theurich, S., Mauer, J., Steculorum, S. M., Hampel, B., Goldau, J., Alber, J., Förster, C. Y., Eming, S. A., Schwaninger, M., Ferrara, N., Karsenty, G., and Brüning, J. C. (2016). Myeloid-cell-derived VEGF maintains brain glucose uptake and limits cognitive impairment in obesity. *Cell*, 165(4), 882-895.

30. Erickson, M. A., Dohi, K., and Banks, W. A. (2012). Neuroinflammation: a common pathway in CNS diseases as mediated at the blood-brain barrier. *Neuroimmunomodulation*, 19(2), 121-130.

31. Storck, S. E., Hartz, A. M., Bernard, J., Wolf, A., Kachlmeier, A., Mahringer, A., Weggen, S., Pahnke, J., and Pietrzik, C. U. (2018). The concerted amyloid-beta clearance of LRP1 and ABCB1/P-gp across the blood-brain barrier is linked by PICALM. *Brain, behavior, and immunity*, 73, 21-33.

32. Cirrito, J. R., Deane, R., Fagan, A. M., Spinner, M. L., Parsadanian, M., Finn, M. B., Jiang, H., Prior, J. L., Sagare, A., Bales, K. R., Paul, S. M., Zlokovic, B. V., Piwnica-Worms, D., and Holtzman, D. M. (2005). P-glycoprotein deficiency at the blood-brain barrier increases amyloid-β deposition in an Alzheimer disease mouse model. *The Journal of clinical investigation*, 115(11), 3285-3290.

33. Zechariah, A., ElAli, A., Hagemann, N., Jin, F., Doeppner, T. R., Helfrich, I., Mies, G., and Hermann, D. M. (2013). Hyperlipidemia attenuates vascular endothelial growth factor–induced angiogenesis, impairs cerebral blood flow, and disturbs stroke recovery via decreased pericyte coverage of brain endothelial cells. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 33(7), 1561-1567.

34. Hohsfield, L. A., Daschil, N., Orädd, G., Strömberg, I., and Humpel, C. (2014). Vascular pathology of 20-month-old hypercholesterolemia mice in comparison to triple-transgenic and APPSwDI Alzheimer's disease mouse models. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 63, 83-95.

35. Loera-Valencia, R., Goikolea, J., Parrado-Fernandez, C., Merino-Serrais, P., and Maioli, S. (2019). Alterations in cholesterol metabolism as a risk factor for developing Alzheimer's disease: Potential novel targets for treatment. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 190, 104-114.

36. Kuo, Y. M., Emmerling, M. R., Bisgaier, C. L., Essenburg, A. D., Lampert, H. C., Drumm, D., and Roher, A. E. (1998). Elevated low-density lipoprotein in

Alzheimer's disease correlates with brain Aβ 1–42 levels. *Biochemical and biophysical research communications,* 252(3), 711-715.

37. Song, F., Poljak, A., Crawford, J., Kochan, N. A., Wen, W., Cameron, B., Lux, O., Brodaty, H., Mather, K., Smythe, G. A., and Sachdev, P. S. (2012). Plasma apolipoprotein levels are associated with cognitive status and decline in a community cohort of older individuals. *PloS one,* 7(6), e34078.

38. Moore, K. L., Persaud, T. V. N., and Torchia, M. G. (2016). *The developing human: clinically oriented embryology* (Tenth edition). Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 51-67.

39. Schoenwolf, G. C., Bleyl, S. B., Brauer, P. R., and Francis-West, P. H. (2015). *Larsen's human embryology* (Fifth edition). Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 197-233.

40. Sadler, T. W. (2019). *Langman's medical embryology* (Fourteenth edition). Philadelphia: Wolters Kluwer, 313-350.

41. Taner, D., Atasever, A., ve Durgun, B. (2021). *Fonksiyonel nöroanatomi* (Yirmi beşinci baskı). Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı, 1-300.

42. Splittgerber, R. (2021). *Snell klinik nöroanatomi* (Sekizinci ingilizce baskıdan çeviri). (Çev. Ed. M. Yıldırım). Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti. (Eserin orijinali 2019'da yayımlandı), 185-277.

43. Ross, M. H., and Pawlina, W. (2016). *Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology* (Seventh edition). Philadelphia: Wolters Kluwer Health, 356-400.

44. Gartner, L. P. (2017). *Textbook of histology* (Fourth edition). Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 211-250.

45. Mescher, A. L. (2009). *Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas* (Twelfth edition). Australia: McGraw Hill Medical, 167-192.

46. Kierszenbaum, A. L., and Tres, L. (2020). *Histology and Cell Biology: an introduction to pathology* (Fifth edition). Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 261-298.

47. Perry, A., and Brat, D. J. (2010). *Practical Surgical Neuropathology: A Diagnostic Approach.* Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 15-33.

48. Junqueira, L. C., ve Carneiro, J. (2006). *Temel Histoloji: Text & Atlas.* (Onuncu ingilizce baskıdan çeviri). (Çev. Ed. Y. Aytekin ve S. Solakoğlu). Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti. (Eserin orijinali 2003'te yayımlandı), 161-190.

49. Hall, J. E., and Hall, M. E. (2021). *Guyton and Hall textbook of medical physiology* (Fourteenth edition). Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 571-572.

50. Goetz, C. G. (2011). The history of Parkinson's disease: early clinical descriptions and neurological therapies. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine,* 1(1).

51. Manyam, B. V. (1990). Paralysis agitans and levodopa in “Ayurveda”: ancient Indian medical treatise. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, 5(1), 47-48.

52. Zhang, Z. X., Dong, Z. H., and Román, G. C. (2006). Early descriptions of Parkinson disease in ancient China. *Archives of neurology*, 63(5), 782-784.

53. Kumar, V., Abbas, A. K., Aster, J. C., and Turner, J. R. (2021). *Robbins and Cotran pathologic basis of disease* (Tenth edition). Philadelphia: Elsevier health sciences, 1242-1302.

54. Kaya, D., ve Soyukibar, T. E. (2022). Parkinson Hastalığı ve Parkinsonizm. *The Journal of Turkish Family Physician*, 13(4), 182-192.

55. De Lau, L. M., and Breteler, M. M. (2006). Epidemiology of Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*, 5(6), 525-535.

56. Nussbaum, R. L., and Ellis, C. E. (2003). Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *New england journal of medicine*, 348(14), 1356-1364.

57. Schrag, A., Ben-Shlomo, Y., and Quinn, N. P. (2000). Cross sectional prevalence survey of idiopathic Parkinson's disease and Parkinsonism in London. *BMJ*, 321(7252), 21-22.

58. Popat, R. A., Van Den Eeden, S. K., Tanner, C. M., McGuire, V., Bernstein, A. L., Bloch, D. A., Leimpeter, A., and Nelson, L. M. (2005). Effect of reproductive factors and postmenopausal hormone use on the risk of Parkinson disease. *Neurology*, 65(3), 383-390.

59. Findley, L. J. (2007). The economic impact of Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, 13, S8-S12.

60. Kempster, P. A., O’Sullivan, S. S., Holton, J. L., Revesz, T., and Lees, A. J. (2010). Relationships between age and late progression of Parkinson’s disease: a clinico pathological study. *Brain*, 133(6), 1755-1762.

61. Ragonese, P., D’amelio, M., Salemi, G., Aridon, P., Gammino, M., Epifanio, A., Morgante, L., and Savettieri, G. (2004). Risk of Parkinson disease in women: effect of reproductive characteristics. *Neurology*, 62(11), 2010-2014.

62. Hardy, J. (2010). Genetic analysis of pathways to Parkinson disease. *Neuron*, 68(2), 201-206.

63. Tanner, C. M. (2010). Advances in environmental epidemiology. *Movement Disorders*, 25(S1), S58-S62.

64. Ikeda, H., Markey, C. J., and Markey, S. P. (1992). Search for neurotoxins structurally related to 1-methyl-4-phenylpyridine (MPP+) in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Brain research*, 575(2), 285-298.

65. McCormack, A. L., Thiruchelvam, M., Manning-Bog, A. B., Thiffault, C., Langston, J. W., Cory-Slechta, D. A., and Di Monte, D. A. (2002). Environmental

risk factors and Parkinson's disease: selective degeneration of nigral dopaminergic neurons caused by the herbicide paraquat. *Neurobiology of disease*, 10(2), 119-127.

66. Tanner, C. M., Kamel, F., Ross, G. W., Hoppin, J. A., Goldman, S. M., Korell, M., Marras, C., Bhudhikanok, G. S., Kasten, M., Chade, A. R., Comyns, K., Richards, M. B., Meng, C., Priestley, B., Fernandez, H. H., Cambi, F., Umbach, D. M., Blair, A., Sandler, D. P., and Langston, J. W. (2011). Rotenone, paraquat, and Parkinson's disease. *Environmental health perspectives*, 119(6), 866-872.

67. Tanner, C. M., Ross, G. W., Jewell, S. A., Hauser, R. A., Jankovic, J., Factor, S. A., Bressman, S., Deligtisch, A., Marras, C., Lyons, K. E., Bhudhikanok, G. S., Roucoux, D. F., Meng, C., Abbott, R. D., and Langston, J. W. (2009). Occupation and risk of parkinsonism: a multicenter case-control study. *Archives of neurology*, 66(9), 1106-1113.

68. Betarbet, R., Sherer, T. B., MacKenzie, G., Garcia-Osuna, M., Panov, A. V., and Greenamyre, J. T. (2000). Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nature neuroscience*, 3(12), 1301-1306.

69. Riederer, P., Reichmann, H., Youdim, M. B. H., and Gerlach, M. (2006). *Parkinson's disease and related disorders.* Vienna: Springer, 153-157.

70. Kenborg, L., Funch Lassen, C., Hansen, J., and Olsen, J. H. (2012). Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders among welders: a Danish cohort study. *Movement disorders*, 27(10), 1283-1289.

71. Kiyohara, C., and Kusuhara, S. (2011). Cigarette smoking and Parkinson's disease: a meta-analysis. *Fukuoka Igaku Zasshi*, 102, 254–265.

72. Quik, M., Huang, L. Z., Parameswaran, N., Bordia, T., Campos, C., and Perez, X. A. (2009). Multiple roles for nicotine in Parkinson's disease. *Biochemical pharmacology*, 78(7), 677-685.

73. Yong, V. W., and Perry, T. L. (1986). Monoamine oxidase B, smoking, and Parkinson's disease. *Journal of the neurological sciences*, 72(2-3), 265-272.

74. Palacios, N., Gao, X., McCullough, M. L., Schwarzschild, M. A., Shah, R., Gapstur, S., and Ascherio, A. (2012). Caffeine and risk of Parkinson's disease in a large cohort of men and women. *Movement Disorders*, 27(10), 1276-1282.

75. Chen, J. F., Xu, K., Petzer, J. P., Staal, R., Xu, Y. H., Beilstein, M., Sonsalla, P. K., Castagnoli, K., Castagnoli Jr N., and Schwarzschild, M. A. (2001). Neuroprotection by caffeine and A (2A) adenosine receptor inactivation in a model of Parkinson's disease. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(10), RC143-RC143.

76. Ascherio, A., and Tanner, C. M. (2009). Use of antihypertensives and the risk of Parkinson disease. *Neurology*, 72(6), 578-579.

77. Surmeier, D. J. (2007). Calcium, ageing, and neuronal vulnerability in Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*, 6(10), 933-938.

78. Zigmond, M. J., Cameron, J. L., Leak, R. K., Mirnics, K., Russell, V. A., Smeyne, R. J., and Smith, A. D. (2009). Triggering endogenous neuroprotective processes through exercise in models of dopamine deficiency. *Parkinsonism & related disorders,* 15, S42-S45.

79. Houlden, H., and Singleton, A. B. (2012). The genetics and neuropathology of Parkinson's disease. *Acta neuropathologica,* 124, 325-338.

80. International Parkinson's Disease Genomics Consortium. (2011). A two-stage meta-analysis identifies several new loci for Parkinson's disease. *PLoS genetics,* 7(6), e1002142.

81. Nalls, M. A., Plagnol, V., Hernandez, D. G., Sharma, M., Sheerin, U. M., Saad, M., Simon-Sanchez, J., Schulte, C., Lesage, S., Sveinbjornsdottir, S., Stefansson, K., Martinez, M., Hardy, J., Heutink, P., Brice, A., Gasser, T., Singleton, A. B., and Wood, N. W. (2011). Imputation of sequence variants for identification of genetic risks for Parkinson's disease: a meta-analysis of genomewide association studies. *Lancet,* 377, 641–649.

82. Klein, C., and Westenberger, A. (2012). Genetics of Parkinson's disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine,* 2(1), a008888.

83. Shulman, J. M., De Jager, P. L., and Feany, M. B. (2011). Parkinson's disease: genetics and pathogenesis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease,* 6, 193-222.

84. Grünewald, A., Kasten, M., Ziegler, A., and Klein, C. (2013). Next-generation phenotyping using the parkin example: time to catch up with genetics. *JAMA neurology,* 70(9), 1186-1191.

85. Vila, M., and Przedborski, S. (2004). Genetic clues to the pathogenesis of Parkinson's disease. *Nature medicine,* 10(7), S58-S62.

86. Reed, X., Bandrés-Ciga, S., Blauwendraat, C., and Cookson, M. R. (2019). The role of monogenic genes in idiopathic Parkinson's disease. *Neurobiology of disease,* 124, 230-239.

87. Bonifati, V., Rohe, C. F., Breedveld, G. J., Fabrizio, E., De Mari, M., Tassorelli, C., Tavella, A., Marconi, R., Nicholl, D. J., Chien, H. F., Fincati, E., Abbruzzese, G., Marini, P., De Gaetano, A., Horstink, M. W., Maat-Kievit, J. A., Sampaio, C., Antonini, A., Stocchi, F., Montagna, P., Toni, V., Guidi, M., Dalla Libera, A., Tinazzi, M., De Pandis, F., Fabbrini, G., Goldwurm, S., de Klein, A., Barbosa, E., Lopiano, L., Martignoni, E., Lamberti, P., Vanacore, N., Meco, G., and Oostra, B. A. (2005). Early-onset parkinsonism associated with PINK1 mutations: frequency, genotypes, and phenotypes. *Neurology,* 65(1), 87-95.

88. Trinh, J., and Farrer, M. (2013). Advances in the genetics of Parkinson disease. *Nature Reviews Neurology,* 9(8), 445-454.

89. Camargos, S. T., Dornas, L. O., Momeni, P., Lees, A., Hardy, J., Singleton, A., and Cardoso, F. (2009). Familial Parkinsonism and early onset Parkinson's disease in a Brazilian movement disorders clinic: phenotypic characterization and frequency of

SNCA, PRKN, PINK1 and LRRK2 mutations. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society,* 24(5), 662.

90. Chu, C. T. (2010). A pivotal role for PINK1 and autophagy in mitochondrial quality control: implications for Parkinson disease. *Human molecular genetics,* 19(R1), R28-R37.

91. Geisler, S., Holmström, K. M., Skujat, D., Fiesel, F. C., Rothfuss, O. C., Kahle, P. J., and Springer, W. (2010). PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nature cell biology,* 12(2), 119-131.

92. Narendra, D., Tanaka, A., Suen, D. F., and Youle, R. J. (2008). Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *The Journal of cell biology,* 183(5), 795-803.

93. Narendra, D., Tanaka, A., Suen, D. F., and Youle, R. J. (2009). Parkin-induced mitophagy in the pathogenesis of Parkinson disease. *Autophagy,* 5(5), 706-708.

94. Deas, E., Wood, N. W., and Plun-Favreau, H. (2011). Mitophagy and Parkinson's disease: the PINK1–parkin link. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research,* 1813(4), 623-633.

95. Harper, J. W., Ordureau, A., and Heo, J. M. (2018). Building and decoding ubiquitin chains for mitophagy. *Nature reviews Molecular cell biology*, 19(2), 93-108.

96. Becker, D., Richter, J., Tocilescu, M. A., Przedborski, S., and Voos, W. (2012). Pink1 kinase and its membrane potential (Δψ)-dependent cleavage product both localize to outer mitochondrial membrane by unique targeting mode. *Journal of Biological Chemistry,* 287(27), 22969-22987.

97. Yamano, K., and Youle, R. J. (2013). PINK1 is degraded through the N-end rule pathway. *Autophagy,* 9(11), 1758-1769.

98. Greene, A. W., Grenier, K., Aguileta, M. A., Muise, S., Farazifard, R., Haque, M. E., McBride, H. M., Park, D. S., and Fon, E. A. (2012). Mitochondrial processing peptidase regulates PINK1 processing, import and Parkin recruitment. *EMBO reports,* 13(4), 378-385.

99. Madsen, D. A., Schmidt, S. I., Blaabjerg, M., and Meyer, M. (2021). Interaction between Parkin and α-synuclein in PARK2-mediated Parkinson’s disease. *Cells,* 10(2), 283.

100. Spatola, M., and Wider, C. (2014). Genetics of Parkinson's disease: the yield. *Parkinsonism & related disorders,* 20, S35-S38.

101. Kumar, K. R., Djarmati-Westenberger, A., and Grünewald, A. (2011). Genetics of Parkinson's disease. *Seminars in neurology,* 31(5), 433-440.

102. Kurman, Y. (2018). Parkinson Hastalığı ve İlişkili Olduğu Genler. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi,* 6(1), 231-239.

103. Hoffman-Zacharska, D., Koziorowski, D., Ross, O. A., Milewski, M., Poznański, J., Jurek, M., Wszolek, Z. K., Soto-Ortolaza, A., Awek, J. A. S., Janik, P., Jamrozik, Z., Potulska-Chromik, A., Jasinska-Myga, B., Opala, G., Krygowska-Wajs, A., Czyzewski, K., Dickson, D. W., Bal, J., and Friedman, A. (2013). Novel A18T and pA29S substitutions in α-synuclein may be associated with sporadic Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders,* 19(11), 1057-1060.

104. Deng, H., and Yuan, L. (2014). Genetic variants and animal models in SNCA and Parkinson disease. *Ageing research reviews,* 15, 161-176.

105. Ellis, C. E., Murphy, E. J., Mitchell, D. C., Golovko, M. Y., Scaglia, F., Barceló-Coblijn, G. C., and Nussbaum, R. L. (2005). Mitochondrial lipid abnormality and electron transport chain impairment in mice lacking α-synuclein. *Molecular and cellular biology,* 25(22), 10190-10201.

106. Dauer, W., Kholodilov, N., Vila, M., Trillat, A. C., Goodchild, R., Larsen, K. E., Staal, R., Tieu, K., Schmitz, Y., Yuan, C. A., Rocha, M., Jackson-Lewis, V., Hersch, S., Sulzer, D., Przedborski, S., Burke, R., and Hen, R. (2002). Resistance of α-synuclein null mice to the parkinsonian neurotoxin MPTP. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 99(22), 14524-14529.

107. Musgrove, R. E., King, A. E., and Dickson, T. C. (2013). α-Synuclein protects neurons from apoptosis downstream of free-radical production through modulation of the MAPK signalling pathway. *Neurotoxicity research,* 23(4), 358-369.

108. Norris, K. L., Hao, R., Chen, L. F., Lai, C. H., Kapur, M., Shaughnessy, P. J., Chou, D., Yan, J., Taylor, J. P., Engelender, S., West, A. E., Lim, K. L., and Yao, T. P. (2015). Convergence of Parkin, PINK1, and α-synuclein on stress-induced mitochondrial morphological remodeling. *Journal of Biological Chemistry,* 290(22), 13862-13874.

109. Kamp, F., Exner, N., Lutz, A. K., Wender, N., Hegermann, J., Brunner, B., Nuscher, B., Bartels, T., Giese, A., Beyer, K., Eimer, S., Winklhofer, K. F., and Haass, C. (2010). Inhibition of mitochondrial fusion by α-synuclein is rescued by PINK1, Parkin and DJ-1. *The EMBO journal,* 29(20), 3571-3589.

110. Nakamura, K., Nemani, V. M., Azarbal, F., Skibinski, G., Levy, J. M., Egami, K., Munishkina, L., Zhang, J., Gardner, B., Wakabayashi, J., Sesaki, H., Cheng, Y., Finkbeiner, S., Nussbaum, R. L., Masliah, E., and Edwards, R. H. (2011). Direct Membrane Association Drives Mitochondrial Fission by the Parkinson Disease-associated Protein α-Synuclein*♦. *Journal of Biological Chemistry,* 286(23), 20710-20726.

111. Daubner, S. C., Le, T., and Wang, S. (2011). Tyrosine hydroxylase and regulation of dopamine synthesis. *Archives of biochemistry and biophysics,* 508(1), 1-12.

112. Molinoff, P. B., and Axelrod, J. (1971). Biochemistry of catecholamines. *Annual review of biochemistry,* 40(1), 465-500.

113. Weiner, N. (1979). Tyrosine-3-monooxygenase (tyrosine hydroxylase). *Aromatic amino acid hydroxylases and mental disease,* 141-190.

114. Tripp, G., and Wickens, J. R. (2009). Neurobiology of ADHD. *Neuropharmacology,* 57(7-8), 579-589.

115. Arnsten, A. F. (1997). Catecholamine regulation of the prefrontal cortex. *Journal of psychopharmacology,* 11(2), 151-162.

116. Assadi, S. M., Yücel, M., and Pantelis, C. (2009). Dopamine modulates neural networks involved in effort-based decision-making. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews,* 33(3), 383-393.

117. Anisman, H., and Zacharko, R. M. (1986). Behavioral and neurochemical consequences associated with stressors. *Annals of the New York Academy of Sciences,* 467, 205-225.

118. Brooks, D. J., and Piccini, P. (2006). Imaging in Parkinson's disease: the role of monoamines in behavior. *Biological psychiatry,* 59(10), 908-918.

119. Weiner, N. (1970). Regulation of norepinephrine biosynthesis. *Annual review of pharmacology,* 10(1), 273-290.

120. Cousins, D. A., Butts, K., and Young, A. H. (2009). The role of dopamine in bipolar disorder. *Bipolar disorders,* 11(8), 787-806.

121. Usdin, E., Kopin, I. J., and Barchas, J. (1978). *Catecholamines: Basic and clinical frontiers.* New York: Pergamon Press, 906-908.

122. Koob, G. F., and Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology,* 35(1), 217-238.

123. Leong, S. L., Cappai, R., Barnham, K. J., and Pham, C. L. L. (2009). Modulation of α-synuclein aggregation by dopamine: a review. *Neurochemical research,* 34, 1838-1846.

124. Perez, R. G., Waymire, J. C., Lin, E., Liu, J. J., Guo, F., and Zigmond, M. J. (2002). A role for α-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. *Journal of Neuroscience,* 22(8), 3090-3099.

125. Ostrerova, N., Petrucelli, L., Farrer, M., Mehta, N., Choi, P., Hardy, J., and Wolozin, B. (1999). α-Synuclein shares physical and functional homology with 14-3-3 proteins. *Journal of Neuroscience,* 19(14), 5782-5791.

126. Dickson, D. W., Braak, H., Duda, J. E., Duyckaerts, C., Gasser, T., Halliday, G. M., Hardy, J., Leverenz, J. B., Del, T. K., Wszolek, Z. K., and Litvan, I. (2009). Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria. *The Lancet Neurology,* 8(12), 1150-1157.

127. Jellinger, K. A. (2012). Neuropathology of sporadic Parkinson's disease: evaluation and changes of concepts. *Movement disorders,* 27(1), 8-30.

128. Lee, J. H., Goedert, M., Hill, W. D., Lee, V. M. Y., and Trojanowski, J. Q. (1993). Tau proteins are abnormally expressed in olfactory epithelium of Alzheimer

patients and developmentally regulated in human fetal spinal cord. *Experimental neurology*, 121(1), 93-105.

129. Witt, M., Bormann, K., Gudziol, V., Pehlke, K., Barth, K., Minovi, A., Hahner, A., Reichmann, H., and Hummel, T. (2009). Biopsies of olfactory epithelium in patients with Parkinson's disease. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, 24(6), 906-914.

130. Fujishiro, H., Frigerio, R., Burnett, M., Klos, K. J., Josephs, K. A., DelleDonne, A., Parisi, J. E., Ahlskog, J. E., and Dickson, D. W. (2008). Cardiac sympathetic denervation correlates with clinical and pathologic stages of Parkinson's disease. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, 23(8), 1085-1092.

131. Orimo, S., Amino, T., Itoh, Y., Takahashi, A., Kojo, T., Uchihara, T., Tsuchiya, K., Mori, F., Wakabayashi, K., and Takahashi, H. (2005). Cardiac sympathetic denervation precedes neuronal loss in the sympathetic ganglia in Lewy body disease. *Acta neuropathologica*, 109, 583-588.

132. Braak, H., de Vos, R. A., Bohl, J., and Del Tredici, K. (2006). Gastric α-synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neuroscience letters*, 396(1), 67-72.

133. Del Tredici, K., Rüb, U., De Vos, R. A., Bohl, J. R., and Braak, H. (2002). Where does parkinson disease pathology begin in the brain? *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 61(5), 413-426.

134. Wakabayashi, K., Takahashi, H., Takeda, S., Ohama, E., and Ikuta, F. (1988). Parkinson's disease: the presence of Lewy bodies in Auerbach's and Meissner's plexuses. *Acta neuropathologica*, 76, 217-221.

135. Braak, H., Del Tredici, K., Rüb, U., De Vos, R. A., Steur, E. N. J., and Braak, E. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of aging*, 24(2), 197-211.

136. Kalaitzakis, M. E., Graeber, M. B., Gentleman, S. M., and Pearce, R. K. B. (2008). The dorsal motor nucleus of the vagus is not an obligatory trigger site of Parkinson's disease: a critical analysis of α-synuclein staging. *Neuropathology and applied neurobiology*, 34(3), 284-295.

137. Goedert, M., Clavaguera, F., and Tolnay, M. (2010). The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases. *Trends in neurosciences*, 33(7), 317-325.

138. Dunning, C. J., Reyes, J. F., Steiner, J. A., and Brundin, P. (2012). Can Parkinson's disease pathology be propagated from one neuron to another? *Progress in neurobiology*, 97(2), 205-219.

139. Riederer, P., Sofic, E., Rausch, W. D., Schmidt, B., Reynolds, G. P., Jellinger, K., and Youdim, M. B. (1989). Transition metals, ferritin, glutathione, and ascorbic acid in parkinsonian brains. *Journal of neurochemistry*, 52(2), 515-520.

140. Schapira, A. H., and Jenner, P. (2011). Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Movement disorders,* 26(6), 1049-1055.

141. Tofaris, G. K., and Spillantini, M. G. (2005). Alpha-synuclein dysfunction in Lewy body diseases. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society,* 20(S12), S37-S44.

142. Schapira, A. H. (2008). Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *The Lancet Neurology,* 7(1), 97-109.

143. Schapira, A. H. (2011). Mitochondrial pathology in Parkinson's disease. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine,* 78(6), 872-881.

144. Giasson, B. I., Duda, J. E., Murray, I. V., Chen, Q., Souza, J. M., Hurtig, H. I., Ischiropoulos, H., Trojanowski, J. Q., and Lee, V. M. (2000). Oxidative damage linked to neurodegeneration by selective α-synuclein nitration in synucleinopathy lesions. *Science,* 290(5493), 985-989.

145. Shashidharan, P., Good, P. F., Hsu, A., Perl, D. P., Brin, M. F., and Olanow, C. W. (2000). TorsinA accumulation in Lewy bodies in sporadic Parkinson's disease. *Brain research,* 877(2), 379-381.

146. Spillantini, M. G., Crowther, R. A., Jakes, R., Hasegawa, M., and Goedert, M. (1998). α-Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 95(11), 6469-6473.

147. McNaught, K. S. P., and Jenner, P. (2001). Proteasomal function is impaired in substantia nigra in Parkinson's disease. *Neuroscience letters,* 297(3), 191-194.

148. McNaught, K. S. P., Shashidharan, P., Perl, D. P., Jenner, P., and Olanow, C. W. (2002). Aggresome-related biogenesis of Lewy bodies. *European Journal of Neuroscience,* 16(11), 2136-2148.

149. Tofaris, G. K., Layfield, R., and Spillantini, M. G. (2001). α-Synuclein metabolism and aggregation is linked to ubiquitin-independent degradation by the proteasome. *FEBS letters,* 509(1), 22-26.

150. McGeer, P. L., Itagaki, S., Boyes, B. E., and McGeer, E. G. (1988). Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology,* 38(8), 1285-1285.

151. Hirsch, E. C., Breidert, T., Rousselet, E., Hunot, S., Hartmann, A., and Michel, P. P. (2003). The role of glial reaction and inflammation in Parkinson's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences,* 991(1), 214-228.

152. Hernández-Romero, M. C., Delgado-Cortés, M. J., Sarmiento, M., de Pablos, R. M., Espinosa-Oliva, A. M., Argüelles, S., Bandez, M. J., Villaran, R. F., Maurino, R., Santiago, M., Venero, J. L., Herrera, A. J., Cano, J., and Machado, A. (2012). Peripheral inflammation increases the deleterious effect of CNS inflammation on the nigrostriatal dopaminergic system. *Neurotoxicology,* 33(3), 347-360.

153. Bevan, M. D., Magill, P. J., Terman, D., Bolam, J. P., and Wilson, C. J. (2002). Move to the rhythm: oscillations in the subthalamic nucleus–external globus pallidus network. *Trends in neurosciences,* 25(10), 525-531.

154. Steigerwald, F., Potter, M., Herzog, J., Pinsker, M., Kopper, F., Mehdorn, H., Deuschl, G., and Volkmann, J. (2008). Neuronal activity of the human subthalamic nucleus in the parkinsonian and nonparkinsonian state. *Journal of neurophysiology,* 100(5), 2515-2524.

155. Bukhatwa, S., Zeng, B. Y., Rose, S., and Jenner, P. (2010). The effects of dose and route of administration of PSI on behavioural and biochemical indices of neuronal degeneration in the rat brain. *Brain research,* 1354, 236-242.

156. McNaught, K. S. P., Perl, D. P., Brownell, A. L., and Olanow, C. W. (2004). Systemic exposure to proteasome inhibitors causes a progressive model of Parkinson's disease. *Annals of neurology,* 56(1), 149-162.

157. Tagliati, M., Martin, C., and Alterman, R. (2010). Lack of motor symptoms progression in Parkinson's disease patients with long-term bilateral subthalamic deep brain stimulation. *International Journal of Neuroscience,* 120(11), 717-723.

158. Dominiczak, M. H., and Caslake, M. J. (2011). Apolipoproteins: metabolic role and clinical biochemistry applications. *Annals of clinical biochemistry,* 48(6), 498-515.

159. Olivecrona, T., and Bengtsson-Olivecrona, G. (1993). Lipoprotein lipase and hepatic lipase. *Current Opinion in Lipidology,* 4(3), 187-196.

160. Zambon, A., Hokanson, J. E., Brown, B. G., and Brunzell, J. D. (1999). Evidence for a new pathophysiological mechanism for coronary artery disease regression: hepatic lipase–mediated changes in LDL density. *Circulation,* 99(15), 1959-1964.

161. Rousset, X., Vaisman, B., Amar, M., Sethi, A. A., and Remaley, A. T. (2009). Lecithin: cholesterol acyltransferase: from biochemistry to role in cardiovascular disease. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity,* 16(2), 163.

162. Applebaum-Bowden, D. (1995). Lipases and lecithin: cholesterol acyltransferase in the control of lipoprotein metabolism. *Current opinion in lipidology,* 6(3), 130-135.

163. Hesler, C. B., Swenson, T. L., and Tall, A. R. (1987). Purification and characterization of a human plasma cholesteryl ester transfer protein. *Journal of Biological Chemistry,* 262(5), 2275-2282.

164. Brown, M. S., and Goldstein, J. L. (1986). A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science,* 232(4746), 34-47.

165. Herz, J. (1993). The LDL-receptor-related protein—portrait of a multifunctional receptor. *Current Opinion in Lipidology,* 4(2), 107-113.

166. Rigotti, A., Miettinen, H. E., and Krieger, M. (2003). The role of the high-density lipoprotein receptor SR-BI in the lipid metabolism of endocrine and other tissues. *Endocrine reviews,* 24(3), 357-387.

167. Powell, L. M., Wallis, S. C., Pease, R. J., Edwards, Y. H., Knott, T. J., and Scott, J. (1987). A novel form of tissue-specific RNA processing produces apolipoprotein-B48 in intestine. *Cell,* 50(6), 831-840.

168. Eisenberg, S., and Sehayek, E. (1995). Remnant particles and their metabolism. *Baillière's clinical endocrinology and metabolism,* 9(4), 739-753.

169. Cohn, J. S., Marcoux, C., and Davignon, J. (1999). Detection, quantification, and characterization of potentially atherogenic triglyceride-rich remnant lipoproteins. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology,* 19(10), 2474-2486.

170. Mann, C. J., Yen, F. T., Grant, A. M., and Bihain, B. E. (1991). Mechanism of plasma cholesteryl ester transfer in hypertriglyceridemia. *The Journal of clinical investigation,* 88(6), 2059-2066.

171. Fruchart, J. C., and Ailhaud, G. (1992). Apolipoprotein A-containing lipoprotein particles: physiological role, quantification, and clinical significance. *Clinical chemistry,* 38(6), 793-797.

172. Lee, D. M., Alaupovic, P., Knight-Gibson, C., and Bagdade, J. D. (2008). Apolipoprotein-B subclasses as acceptors of cholesteryl esters transferred by CETP. *European journal of clinical investigation,* 38(10), 734-742.

173. Havel, R. J. (1984). The formation of LDL: mechanisms and regulation. *Journal of lipid research,* 25(13), 1570-1576.

174. Bruckert, E., and Hansel, B. (2007). HDL-c is a powerful lipid predictor of cardiovascular diseases. *International journal of clinical practice,* 61(11), 1905-1913.

175. von Eckardstein, A., Huang, Y., and Assmann, G. (1994). Physiological role and clinical relevance of high-density lipoprotein subclasses. *Current opinion in lipidology,* 5(6), 404-416.

176. Florentin, M., Liberopoulos, E. N., Wierzbicki, A. S., and Mikhailidis, D. P. (2008). Multiple actions of high-density lipoprotein. *Current opinion in cardiology,* 23(4), 370-378.

177. Björkhem, I., and Meaney, S. (2004). Brain cholesterol: long secret life behind a barrier. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology,* 24(5), 806-815.

178. Dietschy, J. M., and Turley, S. D. (2004). Thematic review series: brain Lipids. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. *Journal of lipid research,* 45(8), 1375-1397.

179. Nieweg, K., Schaller, H., and Pfrieger, F. W. (2009). Marked differences in cholesterol synthesis between neurons and glial cells from postnatal rats. *Journal of neurochemistry,* 109(1), 125-134.

180. Fünfschilling, U., Saher, G., Xiao, L., Möbius, W., and Nave, K. A. (2007). Survival of adult neurons lacking cholesterol synthesis in vivo. *BMC neuroscience,* 8(1), 1-9.

181. Vitali, C., Wellington, C. L., and Calabresi, L. (2014). HDL and cholesterol handling in the brain. *Cardiovascular research*, 103(3), 405-413.

182. Balazs, Z., Panzenboeck, U., Hammer, A., Sovic, A., Quehenberger, O., Malle, E., and Sattler, W. (2004). Uptake and transport of high-density lipoprotein (HDL) and HDL-associated α-tocopherol by an in vitro blood–brain barrier model. *Journal of neurochemistry*, 89(4), 939-950.

183. Rigotti, A., Trigatti, B., Babitt, J., Penman, M., Xu, S., and Krieger, M. (1997). Scavenger receptor BI--a cell surface receptor for high density lipoprotein. *Current opinion in lipidology*, 8(3), 181-188.

184. Dehouck, B., Dehouck, M. P., Fruchart, J. C., and Cecchelli, R. (1987). Upregulation of the low density lipoprotein receptor at the blood-brain barrier: intercommunications between brain capillary endothelial cells and astrocytes. *Review & Expositor*, 84(1), 465-473.

185. Björkhem, I., Lütjohann, D., Diczfalusy, U., Ståhle, L., Ahlborg, G., and Wahren, J. (1998). Cholesterol homeostasis in human brain: turnover of 24S-hydroxycholesterol and evidence for a cerebral origin of most of this oxysterol in the circulation. *Journal of lipid research*, 39(8), 1594-1600.

186. Bryleva, E. Y., Rogers, M. A., Chang, C. C., Buen, F., Harris, B. T., Rousselet, E., Seidah, N. G., Oddo, S., LaFerla, F. M., Spencer, T. A., Hickey, W. F., and Chang, T. Y. (2010). ACAT1 gene ablation increases 24 (S)-hydroxycholesterol content in the brain and ameliorates amyloid pathology in mice with AD. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(7), 3081-3086.

187. Zhang, J., and Liu, Q. (2015). Cholesterol metabolism and homeostasis in the brain. *Protein & cell*, 6(4), 254-264.

188. Lund, E. G., Guileyardo, J. M., and Russell, D. W. (1999). cDNA cloning of cholesterol 24-hydroxylase, a mediator of cholesterol homeostasis in the brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(13), 7238-7243.

189. Lund, E. G., Xie, C., Kotti, T., Turley, S. D., Dietschy, J. M., and Russell, D. W. (2003). Knockout of the cholesterol 24-hydroxylase gene in mice reveals a brain-specific mechanism of cholesterol turnover. *Journal of Biological Chemistry*, 278(25), 22980-22988.

190. Lütjohann, D., Breuer, O., Ahlborg, G., Nennesmo, I., Siden, A., Diczfalusy, U., and Björkhem, I. (1996). Cholesterol homeostasis in human brain: evidence for an age-dependent flux of 24S-hydroxycholesterol from the brain into the circulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(18), 9799-9804.

191. Björkhem, I. (2006). Crossing the barrier: oxysterols as cholesterol transporters and metabolic modulators in the brain. *Journal of internal medicine*, 260(6), 493-508.

192. Ladu, M. J., Reardon, C., Van Eldik, L., Fagan, A. M., Bu, G., Holtzman, D., and Getz, G. S. (2000). Lipoproteins in the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 903(1), 167-175.

193. Boyles, J. K., Pitas, R. E., Wilson, E., Mahley, R. W., and Taylor, J. (1985). Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the central nervous system and with nonmyelinating glia of the peripheral nervous system. *The Journal of clinical investigation,* 76(4), 1501-1513.

194. Fagan, A. M., Holtzman, D. M., Munson, G., Mathur, T., Schneider, D., Chang, L. K., Getz, G. S., Reardon, C. A., Lukens, J., Shah, J. A., and LaDu, M. J. (1999). Unique lipoproteins secreted by primary astrocytes from wild type, apoE (−/−), and human apoE transgenic mice. *Journal of Biological Chemistry,* 274(42), 30001-30007.

195. Navarro, A., Méndez, E., Diaz, C., del Valle, E., Martínez-Pinilla, E., Ordóñez, C., and Tolivia, J. (2013). Lifelong expression of apolipoprotein D in the human brainstem: correlation with reduced age-related neurodegeneration. *PLoS One,* 8(10), e77852.

196. Koch, S., Donarski, N., Goetze, K., Kreckel, M., Stuerenburg, H. J., Buhmann, C., and Beisiegel, U. (2001). Characterization of four lipoprotein classes in human cerebrospinal fluid. *Journal of lipid research,* 42(7), 1143-1151.

197. Vance, J. E., and Hayashi, H. (2010). Formation and function of apolipoprotein E-containing lipoproteins in the nervous system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids,* 1801(8), 806-818.

198. Albers, J. J., Tollefson, J. H., Wolfbauer, G., and Albright, R. E. (1992). Cholesteryl ester transfer protein in human brain. *International Journal of Clinical and Laboratory Research,* 21, 264-266.

199. Zhou, T., He, Q., Tong, Y., Zhan, R., Xu, F., Fan, D., Guo, X., Han, H., Qin, S., and Chui, D. (2014). Phospholipid transfer protein (PLTP) deficiency impaired blood–brain barrier integrity by increasing cerebrovascular oxidative stress. *Biochemical and biophysical research communications,* 445(2), 352-356.

200. Vuletic, S., Jin, L. W., Marcovina, S. M., Peskind, E. R., Mo, T., and Albers, J. J. (2003). Widespread distribution of PLTP in human CNS: evidence for PLTP synthesis by glia and neurons, and increased levels in Alzheimer's disease. *Journal of lipid research,* 44(6), 1113-1123.

201. Demeester, N., Castro, G., Desrumaux, C., De Geitere, C., Fruchart, J. C., Santens, P., Mulleners, E., Engelborghs, S., De Deyn, P. P., Vandekerckhove, J., Rosseneu, M., and Labeur, C. (2000). Characterization and functional studies of lipoproteins, lipid transfer proteins, and lecithin: cholesterol acyltransferase in CSF of normal individuals and patients with Alzheimer's disease. *Journal of lipid research,* 41(6), 963-974.

202. Linton, M. F., Gish, R., Hubl, S. T., Bütler, E., Esquivel, C., Bry, W. I., Boyles, J. K., Wardell, M. R., and Young, S. G. (1991). Phenotypes of apolipoprotein B and apolipoprotein E after liver transplantation. *The Journal of clinical investigation,* 88(1), 270-281.

203. Elshourbagy, N. A., Liao, W. S., Mahley, R. W., and Taylor, J. M. (1985). Apolipoprotein E mRNA is abundant in the brain and adrenals, as well as in the

liver, and is present in other peripheral tissues of rats and marmosets. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 82(1), 203-207.

204. Mahley, R. W., Weisgraber, K. H., and Huang, Y. (2006). Apolipoprotein E4: a causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 103(15), 5644-5651.

205. Xu, Q., Bernardo, A., Walker, D., Kanegawa, T., Mahley, R. W., and Huang, Y. (2006). Profile and regulation of apolipoprotein E (ApoE) expression in the CNS in mice with targeting of green fluorescent protein gene to the ApoE locus. *Journal of Neuroscience,* 26(19), 4985-4994.

206. Stukas, S., Robert, J., Lee, M., Kulic, I., Carr, M., Tourigny, K., Fan, J., Namjoshi, D., Lemke, K., DeValle, N., Chan, J., Wilson, T., Wilkinson, A., Chapanian, R., Kizhakkedathu, J. N., Cirrito, J. R., Oda, M. N., and Wellington, C. L. (2014). Intravenously injected human apolipoprotein A-I rapidly enters the central nervous system via the choroid plexus. *Journal of the American Heart Association,* 3(6), e001156.

207. Herz, J. (2009). ApoE receptors in the nervous system. *Current opinion in lipidology,* 20(3), 190.

208. Bu, G. (2009). Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. *Nature Reviews Neuroscience,* 10(5), 333-344.

209. Holtzman, D. M., Herz, J., and Bu, G. (2012). Apolipoprotein E and apolipoprotein E receptors: normal biology and roles in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine,* 2(3), a006312.

210. Moestrup, S. K., Gliemann, J., and Pallesen, G. (1992). Distribution of the α 2-macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein in human tissues. *Cell and tissue research,* 269, 375-382.

211. Rebeck, G. W., Reiter, J. S., Strickland, D. K., and Hyman, B. T. (1993). Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: allelic variation and receptor interactions. *Neuron,* 11(4), 575-580.

212. Picard, C., Nilsson, N., Labonté, A., Auld, D., Rosa-Neto, P., Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, Ashton, N. J., Zetterberg, H., Blennow, K., Breitner, J. C. B., Villeneuve, S., Poirier, J., and PREVENT-AD research group. (2022). Apolipoprotein B is a novel marker for early tau pathology in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia,* 18(5), 875-887.

213. Segrest, J. P., and Albers, J. J. (1986). *Methods in enzymology.* Academic Press, 262-272.

214. Su, J. W., Nzekwu, M. M., Cabezas, M. C., Redgrave, T., and Proctor, S. D. (2009). Methods to assess impaired post-prandial metabolism and the impact for early detection of cardiovascular disease risk. *European journal of clinical investigation,* 39(9), 741-754.

215. Berry, S. E. E. (2005). Postprandial lipaemia–the influence of diet and its link to coronary heart disease. *Nutrition Bulletin,* 30(4), 314-322.

216. Olofsson, S. O., and Boren, J. (2005). Apolipoprotein B: a clinically important apolipoprotein which assembles atherogenic lipoproteins and promotes the development of atherosclerosis. *Journal of internal medicine,* 258(5), 395-410.

217. Knott, T. J., Pease, R. J., Powell, L. M., Wallis, S. C., Rall Jr, S. C., Innerarity, T. L., Blackhart, B., Taylor, W. H., Marcel, Y., Milne, R., Johnson, D., Fuller, M., Lusis, A. J., McCarthy, B. J., Mahley, R. W., Levy-Wilson, B., and Scott, J. (1986). Complete protein sequence and identification of structural domains of human apolipoprotein B. *Nature,* 323(6090), 734-738.

218. Hussain, M. M., Shi, J., and Dreizen, P. (2003). Microsomal triglyceride transfer protein and its role in apoB-lipoprotein assembly. *Journal of lipid research,* 44(1), 22-32.

219. Blackhart, B. D., Ludwig, E. M., Pierotti, V. R., Caiati, L., Onasch, M. A., Wallis, S. C., Powell, L., Pease, R., Knotts, T. J., Chu, M. L., Mahley, R. W., Scott, J., McCarthy, B. J., and Levy-Wilson, B. (1986). Structure of the human apolipoprotein B gene. *Journal of Biological Chemistry,* 261(33), 15364-15367.

220. Innerarity, T. L., Mahley, R. W., Weisgraber, K. H., Bersot, T. P., Krauss, R. M., Vega, G. L., Grundy, S. M., Friedl, W., Davignon, J., and McCarthy, B. J. (1990). Familial defective apolipoprotein B-100: a mutation of apolipoprotein B that causes hypercholesterolemia. *Journal of lipid research,* 31(8), 1337-1349.

221. Greeve, J., Altkemper, I., Dieterich, J. H., Greten, H., and Windler, E. (1993). Apolipoprotein B mRNA editing in 12 different mammalian species: hepatic expression is reflected in low concentrations of apoB-containing plasma lipoproteins. *Journal of lipid research,* 34(8), 1367-1383.

222. Fernandez, M. L. (2001). Guinea pigs as models for cholesterol and lipoprotein metabolism. *The Journal of nutrition,* 131(1), 10-20.

223. Li, X., Catalina, F., Grundy, S. M., and Patel, S. (1996). Method to measure apolipoprotein B-48 and B-100 secretion rates in an individual mouse: evidence for a very rapid turnover of VLDL and preferential removal of B-48-relative to B-100-containing lipoproteins. *Journal of lipid research,* 37(1), 210-220.

224. Lehnert, S., Jesse, S., Rist, W., Steinacker, P., Soininen, H., Herukka, S. K., Tumani, H., Lenter, M., Oeckl, P., Ferger, B., Hengerer, B., and Otto, M. (2012). iTRAQ and multiple reaction monitoring as proteomic tools for biomarker search in cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease dementia. *Experimental neurology,* 234(2), 499-505.

225. Dong, M. X., Wei, Y. D., and Hu, L. (2021). Lipid metabolic dysregulation is involved in Parkinson’s disease dementia. *Metabolic Brain Disease,* 36(3), 463-470.

226. Wei, Q., Wang, H., Tian, Y., Xu, F., Chen, X., and Wang, K. (2013). Reduced serum levels of triglyceride, very low density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in Parkinson's disease patients. *PLoS One,* 8(9), e75743.

227. Hu, L., Dong, M. X., Huang, Y. L., Lu, C. Q., Qian, Q., Zhang, C. C., Xu, X. M., Liu, Y., Chen, G. H., and Wei, Y. D. (2020). Integrated metabolomics and proteomics analysis reveals plasma lipid metabolic disturbance in patients with Parkinson's disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience,* 80.

228. Fang, F., Zhan, Y., Hammar, N., Shen, X., Wirdefeldt, K., Walldius, G., and Mariosa, D. (2019). Lipids, Apolipoproteins, and the risk of Parkinson disease: a prospective cohort study and a Mendelian randomization analysis. *Circulation research,* 125(6), 643-652.

229. Dong, M. X., Wei, Y. D., and Hu, L. (2021). The disturbance of lipid metabolism is correlated with neuropsychiatric symptoms in patients with Parkinson's disease. *Chemistry and Physics of Lipids,* 239, 105112.

230. Choe, C. U., Petersen, E., Lezius, S., Cheng, B., Schulz, R., Buhmann, C., Pötter-Nerger, M., Daum, G., Blankenberg, S., Gerloff, C., Schwedhelm, E., and Zeller, T. (2021). Association of lipid levels with motor and cognitive function and decline in advanced Parkinson's disease in the Mark-PD study. *Parkinsonism & Related Disorders,* 85, 5-10.

231. Hoyk, Z., Tóth, M. E., Lénárt, N., Nagy, D., Dukay, B., Csefová, A., Zvara, Á., Seprényi, G., Kincses, A., Walter, F. R., Veszelka, S., Vígh, J., Barabási, B., Harazin, A., Kittel, Á., Puskás, L. G., Penke, B., Vígh, L., Deli, M. A., and Sántha, M. (2018). Cerebrovascular pathology in hypertriglyceridemic APOB-100 transgenic mice. *Frontiers in cellular neuroscience,* 380.

232. Buneeva, O. A., Kopylov, A. T., Gnedenko, O. V., Medvedeva, M. V., Kapitsa, I. G., Ivanova, E. A., Ivanov, A. S., and Medvedev, A. E. (2021). Changes in the mitochondrial subproteome of mouse brain Rpn13-binding proteins induced by the neurotoxin MPTP and the neuroprotector isatin. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry,* 15(3), 199-214.

233. Küskü-Kiraz, Z., Genc, S., Bekpınar, S., Ünlücerci, Y., Çevik, A., Olgaç, V., Gürdöl, F., and Uysal, M. (2018). Effects of betaine supplementation on nitric oxide metabolism, atherosclerotic parameters, and fatty liver in guinea pigs fed a high cholesterol plus methionine diet. *Nutrition,* 45, 41-48.

234. Evans, M. B., Tonini, R., Do Shope, C., Oghalai, J. S., Jerger, J. F., Insull Jr, W., and Brownell, W. E. (2006). Dyslipidemia and auditory function. *Otology & neurotology: official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology,* 27(5), 609.

235. Huang, L., Ding, C., and Si, X. (2021). Changes in the interstitial cells of Cajal in the gallbladder of guinea pigs fed a lithogenic diet. *Experimental and Therapeutic Medicine,* 22(2), 1-7.

236. Han, T., Lv, Y., Wang, S., Hu, T., Hong, H., and Fu, Z. (2019). Pioglitazone prevents cholesterol gallstone formation through the regulation of cholesterol homeostasis in guinea pigs with a lithogenic diet. *Lipids in health and disease*, 18(1), 1-11.

237. Tveden-Nyborg, P., Birck, M. M., Ipsen, D. H., Thiessen, T., de Bie Feldmann, L., Lindblad, M. M., Jensen, H. E., and Lykkesfeldt, J. (2016). Diet-induced dyslipidemia leads to nonalcoholic fatty liver disease and oxidative stress in guinea pigs. *Translational Research*, 168, 146-160.

238. Fernandez, M. L., and McNamara, D. J. (1991). Regulation of cholesterol and lipoprotein metabolism in guinea pigs mediated by dietary fat quality and quantity. *The Journal of nutrition*, 121(7), 934-943.

239. Lin, E. C., Fernandez, M. L., and McNamara, D. J. (1992). Dietary fat type and cholesterol quantity interact to affect cholesterol metabolism in guinea pigs. *The Journal of nutrition*, 122(10), 2019-2029.

240. Cos, E., Ramjiganesh, T., Roy, S., Yoganathan, S., Nicolosi, R. J., and Fernandez, M. L. (2001). Soluble fiber and soybean protein reduce atherosclerotic lesions in guinea pigs. Sex and hormonal status determine lesion extension. *Lipids*, 36(11), 1209-1216.

241. Zern, T. L., West, K. L., and Fernandez, M. L. (2003). Grape polyphenols decrease plasma triglycerides and cholesterol accumulation in the aorta of ovariectomized guinea pigs. *The Journal of nutrition*, 133(7), 2268-2272.

242. Møller, P., Daneshvar, B., Loft, S., Wallin, H., Poulsen, H. E., Autrup, H., Ravn-Haren, G., and Dragsted, L. O. (2003). Oxidative DNA damage in vitamin C-supplemented guinea pigs after intratracheal instillation of diesel exhaust particles. *Toxicology and applied pharmacology*, 189(1), 39-44.

243. Witkowska, A., Price, J., Hughes, C., Smith, D., White, K., Alibhai, A., and Rutland, C. S. (2017). The effects of diet on anatomy, physiology and health in the guinea pig. *Journal of Animal Health and Behavioural Science*, 1(1), 1-6.

244. Fikry, H., Saleh, L. A., and Abdel Gawad, S. (2022). Neuroprotective effects of curcumin on the cerebellum in a rotenone-induced Parkinson's disease Model. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 28(5), 732-748.

245. Kavuri, S., Sivanesan, S., Howell, M. D., Vijayaraghavan, R., and Rajadas, J. (2020). Studies on Parkinson's-disease-linked genes, brain urea levels and histopathology in rotenone induced Parkinson's disease rat model. *World Journal of Neuroscience*, 10(4), 216-234.

246. Rasheed, M. Z., Andrabi, S. S., Salman, M., Tabassum, H., Shaquiquzzaman, M., Parveen, S., and Parvez, S. (2018). Melatonin improves behavioral and biochemical outcomes in a rotenone-induced rat model of Parkinson's disease. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 37(2).

247. Dovonou, A., Bolduc, C., Soto Linan, V., Gora, C., Peralta III, M. R., and Lévesque, M. (2023). Animal models of Parkinson's disease: bridging the gap

between disease hallmarks and research questions. *Translational neurodegeneration*, 12(1), 36.

248. Khadrawy, Y. A., Mourad, I. M., Mohammed, H. S., Noor, N. A., and Aboul Ezz, H. S. (2017). Cerebellar neurochemical and histopathological changes in rat model of Parkinson's disease induced by intrastriatal injection of rotenone. *General Physiology and Biophysics*, 36, 99-108.

249. Tu, P. H., Robinson, K. A., de Snoo, F., Eyer, J., Peterson, A., Lee, V. M. Y., and Trojanowski, J. Q. (1997). Selective degeneration of Purkinje cells with Lewy body-like inclusions in aged NFHLACZ transgenic mice. *Journal of Neuroscience*, 17(3), 1064-1074.

250. Xiong, H., and Gendelman, H. E. (2014). *Current laboratory methods in neuroscience research.* Springer, 3-30.

251. Kacamak, P., Ozogul, C., Saribas, G. S., Akarca Dizakar, S. O., and Emniyet Sert, A. A. (2020). The Effect of Isotretinoin on Oocyte Maturation in Adolescent Female Rats. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 85(4), 327-335.

252. Livak, K. J., and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25(4), 402-408.

253. Chou, M. C., Lee, H. C., Liu, Y. C., Yen, P. S. Y., Liu, C. K., Chen, C. H., Hsieh, T. H. and Chen, S. L. (2022). Long-Term High-Fat Diet Consumption Depletes Glial Cells and Tyrosine Hydroxylase–Containing Neurons in the Brain of Middle-Aged Rats. *Cells*, 11(2), 295.

254. Fadaei, R., Poustchi, H., Meshkani, R., Moradi, N., Golmohammadi, T., and Merat, S. (2018). Impaired HDL cholesterol efflux capacity in patients with non-alcoholic fatty liver disease is associated with subclinical atherosclerosis. *Scientific Reports*, 8(1), 11691.

255. Mancia, G., Bombelli, M., Facchetti, R., Casati, A., Ronchi, I., Quarti-Trevano, F., Arenare, F., Grassi, G., and Sega, R. (2010). Impact of different definitions of the metabolic syndrome on the prevalence of organ damage, cardiometabolic risk and cardiovascular events. *Journal of hypertension*, 28(5), 999-1006.

256. Misra, A., Soares, M. J., Mohan, V., Anoop, S., Abhishek, V., Vaidya, R., and Pradeepa, R. (2018). Body fat, metabolic syndrome and hyperglycemia in South Asians. *Journal of diabetes and its complications*, 32(11), 1068-1075.

257. Zhang, P., and Tian, B. (2014). Metabolic syndrome: an important risk factor for Parkinson's disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014.

258. Paoli, A., Bianco, A., Damiani, E., and Bosco, G. (2014). Ketogenic diet in neuromuscular and neurodegenerative diseases. *BioMed research international*, 2014.

259. Breslow, J. L. (1996). Mouse models of atherosclerosis. *Science*, 272(5262), 685-688.

260. Tóth, M. E., Dukay, B., Hoyk, Z., and Sántha, M. (2020). Cerebrovascular changes and neurodegeneration related to hyperlipidemia: characteristics of the human ApoB-100 transgenic mice. *Current Pharmaceutical Design*, 26(13), 1486-1494.

261. Wahl, D., Moreno, J. A., Santangelo, K. S., Zhang, Q., Afzali, M. F., Walsh, M. A., Musci, R. V., Cavalier, A. N., Hamilton, K. L., and LaRocca, T. J. (2022). Nontransgenic Guinea Pig Strains Exhibit Hallmarks of Human Brain Aging and Alzheimer's Disease. *The Journals of Gerontology: Series A*, 77(9), 1766-1774.

262. Bates, K., Vink, R., Martins, R., and Harvey, A. (2014). Aging, cortical injury and Alzheimer's disease-like pathology in the guinea pig brain. *Neurobiology of aging*, 35(6), 1345-1351.

263. Sharman, M. J., Moussavi Nik, S. H., Chen, M. M., Ong, D., Wijaya, L., Laws, S. M., Taddei, K., Newman, M., Lardelli, M., Martins, R. N., and Verdile, G. (2013). The guinea pig as a model for sporadic Alzheimer's disease (AD): the impact of cholesterol intake on expression of AD-related genes. *PLoS one*, 8(6), e66235.

264. Radakovich, L. B., Marolf, A. J., Culver, L. A., and Santangelo, K. S. (2019). Calorie restriction with regular chow, but not a high-fat diet, delays onset of spontaneous osteoarthritis in the Hartley guinea pig model. *Arthritis research & therapy*, 21(1), 1-14.

265. Batarseh, N., and Al Thaher, Y. (2023). High-fat diet and related obesity provoke neurotoxins and alter neuro-biomarkers involved in Parkinson's disease. *Obesity Medicine*, 100500.

266. Barry, R. L., Byun, N. E., Williams, J. M., Siuta, M. A., Tantawy, M. N., Speed, N. K., Saunders, C., Galli, A., Niswender, K.D., and Avison, M. J. (2018). Brief exposure to obesogenic diet disrupts brain dopamine networks. *PLoS One*, 13(4), e0191299.

267. Duan, Y., Zeng, L., Zheng, C., Song, B., Li, F., Kong, X., and Xu, K. (2018). Inflammatory links between high fat diets and diseases. *Frontiers in immunology*, 9, 2649.

268. Kao, Y. C., Wei, W. Y., Tsai, K. J., and Wang, L. C. (2019). High fat diet suppresses peroxisome proliferator-activated receptors and reduces dopaminergic neurons in the substantia nigra. *International journal of molecular sciences*, 21(1), 207.

269. Dalvi, P. S., Chalmers, J. A., Luo, V., Han, D. Y., Wellhauser, L., Liu, Y., Tran, D.Q., Castel, J., Luquet, S., Wheeler, M.B., and Belsham, D. D. (2017). High fat induces acute and chronic inflammation in the hypothalamus: effect of high-fat diet, palmitate and TNF-α on appetite-regulating NPY neurons. *International journal of obesity*, 41(1), 149-158.

270. True, C., Arik, A., Lindsley, S., Kirigiti, M., Sullivan, E., and Kievit, P. (2018). Early high-fat diet exposure causes dysregulation of the orexin and dopamine neuronal populations in nonhuman primates. *Frontiers in endocrinology*, 9, 508.

271. Bousquet, M., St-Amour, I., Vandal, M., Julien, P., Cicchetti, F., and Calon, F. (2012). High-fat diet exacerbates MPTP-induced dopaminergic degeneration in mice. *Neurobiology of disease*, 45(1), 529-538.

272. Martin-Jiménez, C. A., Gaitán-Vaca, D. M., Echeverria, V., González, J., and Barreto, G. E. (2017). Relationship between obesity, Alzheimer's disease, and Parkinson's disease: an astrocentric view. *Molecular neurobiology*, 54, 7096-7115.

273. Özer, A. (2023). Histopathological effect of high fat diet on substantia nigra pars compacta in rotenone-induces Parkinson's type mouse model. Master of Histology and Embryology Thesis. Yeditepe University Institute of Health Sciences Department of Histology and Embryology.

274. Kitada, T., Asakawa, S., Hattori, N., Matsumine, H., Yamamura, Y., Minoshima, S., Yokochi, M., Mizuno, Y. and Shimizu, N. (1998). Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature*, 392(6676), 605-608.

275. Valente, E. M., Abou-Sleiman, P. M., Caputo, V., Muqit, M. M., Harvey, K., Gispert, S., Ali, Z., Turco, D. D., Bentivoglio, A. R., Healy, D. G., Albanese, A., Nussbaum, R., Gonzalez-Maldonado, R., Deller, T., Salvi, S., Cortelli, P., Gilks, W. P., Latchman, D. S., Harvey, R. J., Dallapiccola, B., Auburger, G., and Wood, N. W. (2004). Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science*, 304(5674), 1158-1160.

276. Martín-Maestro, P., Gargini, R., Perry, G., Avila, J., and García-Escudero, V. (2016). PARK2 enhancement is able to compensate mitophagy alterations found in sporadic Alzheimer's disease. *Human molecular genetics*, 25(4), 792-806.

277. Ye, X., Sun, X., Starovoytov, V., and Cai, Q. (2015). Parkin-mediated mitophagy in mutant hAPP neurons and Alzheimer's disease patient brains. *Human molecular genetics*, 24(10), 2938-2951.

278. Rezaie, T., Child, A., Hitchings, R., Brice, G., Miller, L., Coca-Prados, M., Heon, E., Krupin, T., Ritch, R., Kreutzer, D., Crick, R. P., and Sarfarazi, M. (2002). Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science*, 295(5557), 1077-1079.

279. Dai, Y., Hu, X., and Sun, X. (2018). Overexpression of parkin protects retinal ganglion cells in experimental glaucoma. *Cell death & disease*, 9(2), 88.

280. Matsuda, N., Sato, S., Shiba, K., Okatsu, K., Saisho, K., Gautier, C. A., Sou, Y., Saiki, S., Kawajiri, S., Sato, F., Kimura, M., Komatsu, M., Hattori, N., and Tanaka, K. (2010). PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. *Journal of Cell Biology*, 189(2), 211-221.

281. Narendra, D. P., Jin, S. M., Tanaka, A., Suen, D. F., Gautier, C. A., Shen, J., Cookson, M. R. and Youle, R. J. (2010). PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin. *PLoS biology*, 8(1), e1000298.

282. Durcan, T. M., and Fon, E. A. (2015). The three 'P's of mitophagy: PARKIN, PINK1, and post-translational modifications. *Genes & development,* 29(10), 989-999.

283. Lazarou, M., Sliter, D. A., Kane, L. A., Sarraf, S. A., Wang, C., Burman, J. L., Sideris, D. P., Fogel, A. I., and Youle, R. J. (2015). The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy. *Nature,* 524(7565), 309-314.

284. Quinn, P. M., Moreira, P. I., Ambrósio, A. F., and Alves, C. H. (2020). PINK1/PARKIN signalling in neurodegeneration and neuroinflammation. *Acta neuropathologica communications,* 8(1), 1-20.

285. Kane, L. A., Lazarou, M., Fogel, A. I., Li, Y., Yamano, K., Sarraf, S. A., Banerjee, S., and Youle, R. J. (2014). PINK1 phosphorylates ubiquitin to activate Parkin E3 ubiquitin ligase activity. *Journal of Cell Biology,* 205(2), 143-153.

286. Kazlauskaite, A., Kelly, V., Johnson, C., Baillie, C., Hastie, C. J., Peggie, M., Macartney, T., Woodroof, H. I., Alessi, D. R., Pedrioli, P. G. A., and Muqit, M. M. (2014). Phosphorylation of Parkin at Serine65 is essential for activation: elaboration of a Miro1 substrate-based assay of Parkin E3 ligase activity. *Open biology,* 4(3), 130213.

287. Kazlauskaite, A., Kondapalli, C., Gourlay, R., Campbell, D. G., Ritorto, M. S., Hofmann, K., Alessi, D. R., Knebel, A., Trost, M., and Muqit, M. M. (2014). Parkin is activated by PINK1-dependent phosphorylation of ubiquitin at Ser65. *Biochemical Journal,* 460(1), 127-141.

288. Koyano, F., Okatsu, K., Kosako, H., Tamura, Y., Go, E., Kimura, M., Kimura, Y., Tsuchiya, H., Yoshihara, H., Hirokawa, T., Endo, T., Fon, E. A., Trempe, J. F., Saeki, Y., Tanaka, K., and Matsuda, N. (2014). Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate parkin. *Nature,* 510(7503), 162-166.

289. Kazlauskaite, A., Martínez-Torres, R. J., Wilkie, S., Kumar, A., Peltier, J., Gonzalez, A., Johnson, C., Zhang, J., Hope, A. G., Peggie, M., Trost, M., van Aalten, D. M. F., Alessi, D. R., Prescott, A. R., Knebel, A., Walden, H., and Muqit, M. M. (2015). Binding to serine 65-phosphorylated ubiquitin primes Parkin for optimal PINK 1-dependent phosphorylation and activation. *EMBO reports,* 16(8), 939-954.

290. Ordureau, A., Sarraf, S. A., Duda, D. M., Heo, J. M., Jedrychowski, M. P., Sviderskiy, V. O., Olszewski, J. L., Koerber, J. T., Xie, T., Beausoleil, S. A., Wells, J. A., Gygi, S. P., Schulman, B. A., and Harper, J. W. (2014). Quantitative proteomics reveal a feedforward mechanism for mitochondrial PARKIN translocation and ubiquitin chain synthesis. *Molecular cell,* 56(3), 360-375.

291. Heo, J. M., Ordureau, A., Paulo, J. A., Rinehart, J., and Harper, J. W. (2015). The PINK1-PARKIN mitochondrial ubiquitylation pathway drives a program of OPTN/NDP52 recruitment and TBK1 activation to promote mitophagy. *Molecular cell,* 60(1), 7-20.

292. Ordureau, A., Heo, J. M., Duda, D. M., Paulo, J. A., Olszewski, J. L., Yanishevski, D., Rinehart, J., Schulman, B. A., and Harper, J. W. (2015). Defining roles of

PARKIN and ubiquitin phosphorylation by PINK1 in mitochondrial quality control using a ubiquitin replacement strategy. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 112(21), 6637-6642.

293. Beilina, A., Van Der Brug, M., Ahmad, R., Kesavapany, S., Miller, D. W., Petsko, G. A., and Cookson, M. R. (2005). Mutations in PTEN-induced putative kinase 1 associated with recessive parkinsonism have differential effects on protein stability. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 102(16), 5703-5708.

294. Kondapalli, C., Kazlauskaite, A., Zhang, N., Woodroof, H. I., Campbell, D. G., Gourlay, R., Burchell, L., Walden, H., Macartney, T. J., Deak, M., Knebel, A., Alessi, D. R., and Muqit, M. M. (2012). PINK1 is activated by mitochondrial membrane potential depolarization and stimulates Parkin E3 ligase activity by phosphorylating Serine 65. *Open biology,* 2(5), 120080.

295. Trempe, J. F., and Gehring, K. (2023). Structural mechanisms of mitochondrial quality control mediated by PINK1 and parkin. *Journal of Molecular Biology,* 168090.

296. Okatsu, K., Oka, T., Iguchi, M., Imamura, K., Kosako, H., Tani, N., Kimura, M., Go, E., Koyano, F., Funayama, M., Shiba-Fukushima, K., Sato, S., Shimizu, H., Fukunaga, Y., Taniguchi, H., Komatsu, M., Hattori, N., Mihara, K., Tanaka, K., and Matsuda, N. (2012). PINK1 autophosphorylation upon membrane potential dissipation is essential for Parkin recruitment to damaged mitochondria. *Nature communications,* 3(1), 1016.

297. Rasool, S., Soya, N., Truong, L., Croteau, N., Lukacs, G. L., and Trempe, J. F. (2018). PINK 1 autophosphorylation is required for ubiquitin recognition. *EMBO reports,* 19(4), e44981.

298. Rasool, S., Veyron, S., Soya, N., Eldeeb, M. A., Lukacs, G. L., Fon, E. A., and Trempe, J. F. (2022). Mechanism of PINK1 activation by autophosphorylation and insights into assembly on the TOM complex. *Molecular Cell,* 82(1), 44-59.

299. Khang, R., Park, C., and Shin, J. H. (2015). Dysregulation of parkin in the substantia nigra of db/db and high-fat diet mice. *Neuroscience,* 294, 182-192.

300. Wen, J., Wang, Y., Wang, C., Yuan, M., Chen, F., Zou, Q., Cai, Z., and Zhao, B. (2023). Dietary High-Fat Promotes Cognitive Impairment by Suppressing Mitophagy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity,* 2023.

301. Rompuy, A. S. V., Lobbestael, E., Perren, A. V. D., Haute, C. V. D., and Baekelandt, V. (2014). Long-term overexpression of human wild-type and T240R mutant Parkin in rat substantia nigra induces progressive dopaminergic neurodegeneration. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology,* 73(2), 159-174.

302. Vercammen, L., Van der Perren, A., Vaudano, E., Gijsbers, R., Debyser, Z., Van den Haute, C., and Baekelandt, V. (2006). Parkin protects against neurotoxicity in the 6-hydroxydopamine rat model for Parkinson's disease. *Molecular Therapy,* 14(5), 716-723.

303. McWilliams, T. G., Prescott, A. R., Montava-Garriga, L., Ball, G., Singh, F., Barini, E., Muqit, M. M. K., Brooks, S. P., and Ganley, I. G. (2018). Basal mitophagy occurs independently of PINK1 in mouse tissues of high metabolic demand. *Cell metabolism*, 27(2), 439-449.

304. Ingelsson, M. (2016). Alpha-synuclein oligomers—neurotoxic molecules in Parkinson's disease and other Lewy body disorders. *Frontiers in neuroscience*, 10, 408.

305. Syafrita, Y., Istarini, A., Busra, M., Indra, S., and Susanti, R. (2022). Relationship between Plasma Level of Beta-amyloid, Alpha-synuclein, and Tau Protein with Cognitive Impairment in Parkinson Disease. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 10(B), 663-667.

306. Alerte, T. N., Akinfolarin, A. A., Friedrich, E. E., Mader, S. A., Hong, C. S., and Perez, R. G. (2008). α-Synuclein aggregation alters tyrosine hydroxylase phosphorylation and immunoreactivity: lessons from viral transduction of knockout mice. *Neuroscience letters*, 435(1), 24-29.

307. Bittencourt, A., Brum, P. O., Ribeiro, C. T., Gasparotto, J., Bortolin, R. C., de Vargas, A. R., Heimfarth, L., de Almeida, R.F., Moreira, J.C.F., de Oliveira, J., and Gelain, D. P. (2022). High fat diet-induced obesity causes a reduction in brain tyrosine hydroxylase levels and non-motor features in rats through metabolic dysfunction, neuroinflammation and oxidative stress. *Nutritional neuroscience*, 25(5), 1026-1040.

308. Moreno-García, A., Kun, A., Calero, M., and Calero, O. (2021). The neuromelanin paradox and its dual role in oxidative stress and neurodegeneration. *Antioxidants*, 10(1), 124.

309. Park, H. R., Park, M., Choi, J., Park, K. Y., Chung, H. Y., and Lee, J. (2010). A high-fat diet impairs neurogenesis: involvement of lipid peroxidation and brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience letters*, 482(3), 235-239.

310. Okada, L. S. D. R. R., Oliveira, C. P., Stefano, J. T., Nogueira, M. A., da Silva, I. D. C. G., Cordeiro, F. B., F.B., Alves, V.A.F., Torrinhas, R.S., Carrilho, F.J., Puri, P., and Waitzberg, D. L. (2018). Omega-3 PUFA modulate lipogenesis, ER stress, and mitochondrial dysfunction markers in NASH–proteomic and lipidomic insight. *Clinical nutrition*, 37(5), 1474-1484.

311. Hong, C. T., Chen, K. Y., Wang, W., Chiu, J. Y., Wu, D., Chao, T. Y., Hu, C.-J., and Bamodu, O. A. (2020). Insulin resistance promotes Parkinson's disease through aberrant expression of α-synuclein, mitochondrial dysfunction, and deregulation of the polo-like kinase 2 signaling. *Cells*, 9(3), 740.

312. Simpson, D. S., and Oliver, P. L. (2020). ROS generation in microglia: understanding oxidative stress and inflammation in neurodegenerative disease. *Antioxidants*, 9(8), 743.

313. Fujiwara, H., Hasegawa, M., Dohmae, N., Kawashima, A., Masliah, E., Goldberg, M. S., Shen J, Takio K, and Iwatsubo, T. (2002). α-Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. *Nature cell biology*, 4(2), 160-164.

314. Delic, V., Chandra, S., Abdelmotilib, H., Maltbie, T., Wang, S., Kem, D., Scott, H. J., Underwood, R. N., Liu, Z., Volpicelli-Daley, L. A., West, A. B. and West, A. B. (2018). Sensitivity and specificity of Phospho-Ser129 α-Synuclein monoclonal antibodies. *Journal of Comparative Neurology,* 526(12), 1978-1990.

315. Oueslati, A. (2016). Implication of alpha-synuclein phosphorylation at S129 in synucleinopathies: what have we learned in the last decade?. *Journal of Parkinson's disease,* 6(1), 39-51.

316. Gomez-Tortosa, E., Irizarry, M. C., Gomez-Isla, T., and Hyman, B. T. (2000). Clinical and neuropathological correlates of dementia with Lewy bodies. *Annals of the New York Academy of Sciences,* 920(1), 9-15.

317. Burke, R. E., Dauer, W. T., and Vonsattel, J. P. G. (2008). A critical evaluation of the Braak staging scheme for Parkinson's disease. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society,* 64(5), 485-491.

318. Halliday, G., Hely, M., Reid, W., and Morris, J. (2008). The progression of pathology in longitudinally followed patients with Parkinson's disease. *Acta neuropathologica*, 115, 409-415.

319. Han, J., Plummer, J., Liu, L., Byrd, A., Aschner, M., and Erikson, K. M. (2019). The impact of obesity on brain iron levels and α-synuclein expression is regionally dependent. *Nutritional Neuroscience,* 22(5), 335-343.

320. Hurley, M. J., Mash, D. C., and Jenner, P. (2003). Markers for dopaminergic neurotransmission in the cerebellum in normal individuals and patients with Parkinson's disease examined by RT-PCR. *European Journal of Neuroscience,* 18(9), 2668-2672.

321. Giompres, P., and Delis, F. (2005). Dopamine transporters in the cerebellum of mutant mice. *The Cerebellum,* 4, 105-111.

322. Panagopoulos, N. T., Papadopoulos, G. C., and Matsokis, N. A. (1991). Dopaminergic innervation and binding in the rat cerebellum. *Neuroscience letters,* 130(2), 208-212.

323. Ikai, Y., Takada, M., Shinonaga, Y., and Mizuno, N. (1992). Dopaminergic and non-dopaminergic neurons in the ventral tegmental area of the rat project, respectively, to the cerebellar cortex and deep cerebellar nuclei. *Neuroscience,* 51(3), 719-728.

324. Melchitzky, D. S., and Lewis, D. A. (2000). Tyrosine hydroxylase-and dopamine transporter-immunoreactive axons in the primate cerebellum: evidence for a lobular-and laminar-specific dopamine innervation. *Neuropsychopharmacology,* 22(5), 466-472.

325. Wu, T., and Hallett, M. (2013). The cerebellum in Parkinson's disease. *Brain,* 136(3), 696-709.

326. Solano, S. M., Miller, D. W., Augood, S. J., Young, A. B., and Penney Jr, J. B. (2000). Expression of α-synuclein, parkin, and ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 mRNA in human brain: genes associated with familial Parkinson's disease. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 47(2), 201-210.

327. Piao, Y. S., Mori, F., Hayashi, S., Tanji, K., Yoshimoto, M., Kakita, A., Wakabayashi, K., and Takahashi, H. (2003). α-Synuclein pathology affecting Bergmann glia of the cerebellum in patients with α-synucleinopathies. *Acta neuropathologica*, 105, 403-409.

328. Fuchs, J., Tichopad, A., Golub, Y., Munz, M., Schweitzer, K. J., Wolf, B., Berg, D., Mueller, J. C., and Gasser, T. (2008). Genetic variability in the SNCA gene influences α-synuclein levels in the blood and brain. *The FASEB journal*, 22(5), 1327-1334.

329. Westerlund, M., Belin, A. C., Anvret, A., Håkansson, A., Nissbrandt, H., Lind, C., Sydow, O., Olson, L., and Galter, D. (2008). Cerebellar αsynuclein levels are decreased in Parkinson's disease and do not correlate with SNCA polymorphisms associated with disease in a Swedish material. *The FASEB Journal*, 22(10), 3509-3514.

330. Abdelwahab, S. A., Elsebay, S. A. G., Ibrahim, M. F. G., and Hafez, S. M. N. A. (2021). Cerebral and cerebellar histological changes in the rat animal model of rotenone induced parkinsonism can be ameliorated by bone marrow derived stem cell conditioned media. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 111, 101892.

331. Jang, Y., Lee, M. J., Han, J., Kim, S. J., Ryu, I., Ju, X., Ryu, M. J., Chung, W., Oh, E., Kweon, G. R., and Heo, J. Y. (2017). A high-fat diet induces a loss of midbrain dopaminergic neuronal function that underlies motor abnormalities. *Experimental neurobiology*, 26(2), 104.

332. Li, Y., South, T., Han, M., Chen, J., Wang, R., and Huang, X. F. (2009). High-fat diet decreases tyrosine hydroxylase mRNA expression irrespective of obesity susceptibility in mice. *Brain research*, 1268, 181-189.

333. Huang, X. F., Yu, Y., Zavitsanou, K., Han, M., and Storlien, L. (2005). Differential expression of dopamine D2 and D4 receptor and tyrosine hydroxylase mRNA in mice prone, or resistant, to chronic high-fat diet-induced obesity. *Molecular Brain Research*, 135(1-2), 150-161.

334. Sjoerdsma, A., Engelman, K., Spector, S., and Udenfriend, S. (1965). Inhibition of catecholamine synthesis in man with alpha-methyl-tyrosine, an inhibitor of tyrosine hydroxylase. *The Lancet*, 286(7422), 1092-1094.

335. Tabrez, S., R Jabir, N., Shakil, S., H Greig, N., Alam, Q., M Abuzenadah, A., A. Damanhouri, G., and A Kamal, M. (2012). A synopsis on the role of tyrosine hydroxylase in Parkinson's disease. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 11(4), 395-409.

336. Zhu, Y., Zhang, J., and Zeng, Y. (2012). Overview of tyrosine hydroxylase in Parkinson's disease. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 11(4), 350-358.

337. Mally, P., Mishra, R., Gandhi, S., Decastro, M. H., Nankova, B. B., and Lagamma, E. F. (2004). Stereospecific regulation of tyrosine hydroxylase and proenkephalin genes by short-chain fatty acids in rat PC12 cells. *Pediatric research*, 55(5), 847-854.

338. DeCastro, M., Nankova, B. B., Shah, P., Patel, P., Mally, P. V., Mishra, R., and La Gamma, E. F. (2005). Short chain fatty acids regulate tyrosine hydroxylase gene expression through a cAMP-dependent signaling pathway. *Molecular brain research*, 142(1), 28-38.

339. Schommer, J., Marwarha, G., Nagamoto-Combs, K., and Ghribi, O. (2018). Palmitic acid-enriched diet increases α-synuclein and tyrosine hydroxylase expression levels in the mouse brain. *Frontiers in Neuroscience*, 12, 552.

340. Goritz, C., Mauch, D. H., and Pfrieger, F. W. (2005). Multiple mechanisms mediate cholesterol-induced synaptogenesis in a CNS neuron. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 29(2), 190-201.

341. Pfenninger, K. H. (2009). Plasma membrane expansion: a neuron's Herculean task. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(4), 251-261.

342. Takamori, S., Holt, M., Stenius, K., Lemke, E. A., Grønborg, M., Riedel, D., Urlaub, H., Schenck, S., Brügger, B., Ringler, P., Müller, S. A., Rammner, B., Gräter, F., Hub, J. S., De Groot, B. L., Mieskes, G., Moriyama, Y., Klingauf, J., Grubmüller, H., Heuser, J., Wieland, F., and Jahn, R. (2006). Molecular anatomy of a trafficking organelle. *Cell*, 127(4), 831-846.

343. Hong, D. Y., Lee, D. H., Lee, J. Y., Lee, E. C., Park, S. W., Lee, M. R., and Oh, J. S. (2022). Relationship between brain metabolic disorders and cognitive impairment: LDL receptor defect. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8384.

344. Pfrieger, F. W., and Ungerer, N. (2011). Cholesterol metabolism in neurons and astrocytes. *Progress in lipid research*, 50(4), 357-371.

345. Linetti, A., Fratangeli, A., Taverna, E., Valnegri, P., Francolini, M., Cappello, V., Matteoli, M., Passafaro, M., Rosa, P. (2010). Cholesterol reduction impairs exocytosis of synaptic vesicles. *Journal of Cell Science*, 123(4), 595-605.

346. Liu, Q., Trotter, J., Zhang, J., Peters, M. M., Cheng, H., Bao, J., Han, X., Weeber, E. J., and Bu, G. (2010). Neuronal LRP1 knockout in adult mice leads to impaired brain lipid metabolism and progressive, age-dependent synapse loss and neurodegeneration. *Journal of Neuroscience*, 30(50), 17068-17078.

347. Liu, Q., Zerbinatti, C. V., Zhang, J., Hoe, H. S., Wang, B., Cole, S. L., Herz, J., Muglia, L., and Bu, G. (2007). Amyloid precursor protein regulates brain apolipoprotein E and cholesterol metabolism through lipoprotein receptor LRP1. *Neuron*, 56(1), 66-78.

348. Block, R. C., Dorsey, E. R., Beck, C. A., Brenna, J. T., and Shoulson, I. (2010). Altered cholesterol and fatty acid metabolism in Huntington disease. *Journal of clinical lipidology*, 4(1), 17-23.

349. Di Paolo, G., and Kim, T. W. (2011). Linking lipids to Alzheimer's disease: cholesterol and beyond. *Nature Reviews Neuroscience*, 12(5), 284-296.

350. Wang, Q., Yan, J., Chen, X., Li, J., Yang, Y., Weng, J., Deng, C., and Yenari, M. A. (2011). Statins: multiple neuroprotective mechanisms in neurodegenerative diseases. *Experimental neurology*, 230(1), 27-34.

351. Mulder, M., Jansen, P. J., Janssen, B. J., van de Berg, W. D., van der Boom, H., Havekes, L. M., de Kloet, R. E., Ramaekers, F. C. S., and Blokland, A. (2004). Low-density lipoprotein receptor-knockout mice display impaired spatial memory associated with a decreased synaptic density in the hippocampus. *Neurobiology of disease*, 16(1), 212-219.

352. Benilova, I., Karran, E., and De Strooper, B. (2012). The toxic Aβ oligomer and Alzheimer's disease: an emperor in need of clothes. *Nature neuroscience*, 15(3), 349-357.

353. Hardy, J., and Selkoe, D. J. (2002). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 297(5580), 353-356.

354. Basak, J. M., Verghese, P. B., Yoon, H., Kim, J., and Holtzman, D. M. (2012). Low-density lipoprotein receptor represents an apolipoprotein E-independent pathway of Aβ uptake and degradation by astrocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 287(17), 13959-13971.

355. Castellano, J. M., Deane, R., Gottesdiener, A. J., Verghese, P. B., Stewart, F. R., West, T., Paoletti, A. C., Kasper, T. R., DeMattos, R. B., Zlokovic, B. V., and Holtzman, D. M. (2012). Low-density lipoprotein receptor overexpression enhances the rate of brain-to-blood Aβ clearance in a mouse model of β-amyloidosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(38), 15502-15507.

356. de Oliveira, J., Moreira, E. L. G., dos Santos, D. B., Piermartiri, T. C., Dutra, R. C., Pinton, S., Tasca, C. I., Farina, M., Prediger, R. D. S., and de Bem, A. F. (2014). Increased susceptibility to amyloid-β-induced neurotoxicity in mice lacking the low-density lipoprotein receptor. *Journal of Alzheimer's Disease*, 41(1), 43-60.

357. Elder, G. A., Ragnauth, A., Dorr, N., Franciosi, S., Schmeidler, J., Haroutunian, V., and Buxbaum, J. D. (2008). Increased locomotor activity in mice lacking the low-density lipoprotein receptor. *Behavioural brain research*, 191(2), 256-265.

358. Moreira, E. L. G., de Oliveira, J., Nunes, J. C., Santos, D. B., Nunes, F. C., Vieira, D. S. C., Ribeiro-do-Valle, R. M., Pamplona, F. A., de Bem, A. F., Farina, M., Walz, R., and Prediger, R. D. (2012). Age-related cognitive decline in hypercholesterolemic LDL receptor knockout mice (LDLr−/−): evidence of antioxidant imbalance and increased acetylcholinesterase activity in the prefrontal cortex. *Journal of Alzheimer's Disease*, 32(2), 495-511.

359. Wang, S. H., Huang, Y., Yuan, Y., Xia, W. Q., Wang, P., and Huang, R. (2014). LDL receptor knock-out mice show impaired spatial cognition with hippocampal vulnerability to apoptosis and deficits in synapses. *Lipids in health and disease*, 13(1), 1-11.

360. De Oliveira, J., Hort, M. A., Moreira, E. L. G., Glaser, V., Ribeiro-do-Valle, R. M., Prediger, R. D., Farina, M., Latini, A., and De Bem, A. F. (2011). Positive correlation between elevated plasma cholesterol levels and cognitive impairments in LDL receptor knockout mice: relevance of cortico-cerebral mitochondrial dysfunction and oxidative stress. *Neuroscience,* 197, 99-106.

361. Oh, S. E., and Mouradian, M. M. (2017). Regulation of signal transduction by DJ-1. *DJ-1/PARK7 Protein: Parkinson's Disease, Cancer and Oxidative Stress-Induced Diseases*, 97-131.

362. Kim, K. S., Kim, J. S., Park, J. Y., Suh, Y. H., Jou, I., Joe, E. H., and Park, S. M. (2013). DJ-1 associates with lipid rafts by palmitoylation and regulates lipid rafts-dependent endocytosis in astrocytes. *Human molecular genetics,* 22(23), 4805-4817.

363. Kim, J. M., Cha, S. H., Choi, Y. R., Jou, I., Joe, E. H., and Park, S. M. (2016). DJ-1 deficiency impairs glutamate uptake into astrocytes via the regulation of flotillin-1 and caveolin-1 expression. *Scientific reports*, 6(1), 28823.

364. Bae, E. J., Kim, D. K., Kim, C., Mante, M., Adame, A., Rockenstein, E., Ulusoy, A., Klinkenberg, M., Jeong, G. R., Bae, J. R., Lee C, Lee, H. J., Lee, B. D., Di Monte, D. A., Masliah, E., and Lee, S. J. (2018). LRRK2 kinase regulates α-synuclein propagation via RAB35 phosphorylation. *Nature communications*, 9(1), 3465.

365. Yamaguchi, S., Yamane, T., Takahashi-Niki, K., Kato, I., Niki, T., Goldberg, M. S., Shen, J., Ishimoto, K., Doi, T., Iguchi-Ariga, S. M., and Ariga, H. (2012). Transcriptional activation of low-density lipoprotein receptor gene by DJ-1 and effect of DJ-1 on cholesterol homeostasis. *PLoS One*, 7(5), e38144.

366. Baptista, M. A., Dave, K. D., Frasier, M. A., Sherer, T. B., Greeley, M., Beck, M. J., Varsho, J. S., Parker, G, A., Moore, C., Churchill, M. J., Meshul, C.K., and Fiske, B. K. (2013). Loss of leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) in rats leads to progressive abnormal phenotypes in peripheral organs. *PloS one*, 8(11), e80705.

367. Fallon, L., Moreau, F., Croft, B. G., Labib, N., Gu, W. J., and Fon, E. A. (2002). Parkin and CASK/LIN-2 associate via a PDZ-mediated interaction and are co-localized in lipid rafts and postsynaptic densities in brain. *Journal of Biological Chemistry*, 277(1), 486-491.

368. Silvestri, L., Caputo, V., Bellacchio, E., Atorino, L., Dallapiccola, B., Valente, E. M., and Casari, G. (2005). Mitochondrial import and enzymatic activity of PINK1 mutants associated to recessive parkinsonism. *Human molecular genetics,* 14(22), 3477-3492.

369. Hatano, T., Kubo, S. I., Imai, S., Maeda, M., Ishikawa, K., Mizuno, Y., and Hattori, N. (2007). Leucine-rich repeat kinase 2 associates with lipid rafts. *Human molecular genetics*, 16(6), 678-690.

370. Kang, S. J., Kim, J. S., and Park, S. M. (2018). Ubiquitin C-terminal hydrolase L1 regulates lipid raft-dependent endocytosis. *Experimental neurobiology*, 27(5), 3

371. Abdel-Fattah, G., Fernandez, M. L., and McNamara, D. J. (1995). Regulation of guinea pig very low density lipoprotein secretion rates by dietary fat saturation. *Journal of lipid research*, 36(6), 1188-1198.

372. Ye, P., Cheah, I. K., and Halliwell, B. (2013). High fat diets and pathology in the guinea pig. Atherosclerosis or liver damage?. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1832(2), 355-364.

373. Conde, K., Vergara-Jimenez, M., Krause, B. R., Newton, R. S., and Fernandez, M. L. (1996). Hypocholesterolemic actions of atorvastatin are associated with alterations on hepatic cholesterol metabolism and lipoprotein composition in the guinea pig. *Journal of lipid research*, 37(11), 2372-2382.

374. Conde, K., Pineda, G., Newton, R. S., and Fernandez, M. L. (1999). Hypocholesterolemic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors in the guinea pig: atorvastatin versus simvastatin. *Biochemical pharmacology*, 58(7), 1209-1219.

375. Rantala, M., Rantala, T. T., Savolainen, M. J., Friedlander, Y., and Kesäniemi, Y. A. (2000). Apolipoprotein B gene polymorphisms and serum lipids: meta-analysis of the role of genetic variation in responsiveness to diet. *The American journal of clinical nutrition*, 71(3), 713-724.

376. Glatz, J. F., Turner, P. R., Katan, M. B., Stalenhoef, A. F., and Lewis, B. A. R. R. Y. (1993). Hypo-and hyperresponse of serum cholesterol level and low density lipoprotein production and degradation to dietary cholesterol in man. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 676, 163-179.

377. Berg, K. (1986). DNA polymorphism at the apolipoprotein B locus is associated with lipoprotein level. *Clinical genetics*, 30(6), 515-520.

378. Law, A., Powell, L. M., Brunt, H., Knott, T. J., Altman, D. G., Rajput, T., Wallis, S. C., Pease, R. J., Priestley, L. M., Scott, J., Miller, G. J., and Miller, N. E. (1986). Common DNA polymorphism within coding sequence of apolipoprotein B gene associated with altered lipid levels. *The Lancet*, 327(8493), 1301-1303.

379. Talmud, P. J., Barni, N., Kessling, A. M., Carlsson, P., Darnfors, C., Bjursell, G., Galton, D., Wynn, V., Kirk, H., Hayden, M. R., and Humphries, S. E. (1987). Apolipoprotein B gene variants are involved in the determination of serum cholesterol levels: a study in normo-and hypelipidaemic individuals. *Atherosclerosis*, 67(1), 81-89.

380. Aalto-Setälä, K., Gylling, H., Helve, E., Kovanen, P., Miettinen, T. A., Turtola, H., and Kontula, K. (1989). Genetic polymorphism of the apolipoprotein B gene locus

influences serum LDL cholesterol level in familial hypercholesterolemia. *Human genetics,* 82, 305-307.

381. Lin, E. C. K., Fernandez, M. L., and McNamara, D. J. (1994). Dietary fat and cholesterol regulation of hepatic LDL in the guinea pig. *Journal of lipid research,* 35, 446-457.

382. Lin, E. C. K., Fernandez, M. L., and McNamara, D. J. (1995). Dietary fat and cholesterol regulation of HDL metabolism: Hepatic HDL binding and in vivo apolipoprotein AI catabolism in guinea pigs. *Atherosclerosis,* 112, 161-175.

383. Nicolosi, R. J. (1997). Dietary fat saturation effects on low-density-lipoprotein concentrations and metabolism in various animal models. *The American journal of clinical nutrition,* 65(5), 1617S-1627S.

384. Kris-Etherton, P. M., and Yu, S. (1997). Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. *The American journal of clinical nutrition,* 65(5), 1628S-1644S.

385. Nawrocki, J. W., Weiss, S. R., Davidson, M. H., Sprecher, D. L., Schwartz, S. L., Lupien, P. J., Jones, P. H., Haber, H. E., and Black, D. M. (1995). Reduction of LDL cholesterol by 25% to 60% in patients with primary hypercholesterolemia by atorvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology,* 15(5), 678-682.

386. Fernandez, M. L., Wilson, T. A., Conde, K., Vergara-Jimenez, M., and Nicolosi, R. J. (1999). Hamsters and guinea pigs differ in their plasma lipoprotein cholesterol distribution when fed diets varying in animal protein, soluble fiber, or cholesterol content. *The Journal of nutrition,* 129(7), 1323-1332.

387. Fernandez, M. L., Lin, E. C. K., and McNamara, D. J. (1994). Dietary saturated fat composition modifies high density lipoprotein binding to guinea pig hepatic membranes. *Nutrition Research,* 14, 753-764.

388. Fernandez, M. L., and McNamara, D. J. (1991). Characterization of high-density lipoprotein binding to guinea pig hepatic membranes: effects of dietary fat quality and cholesterol feeding. *Metabolism,* 40(2), 127-134.

389. He, L., and Fernandez, M. L. (1998). Dietary carbohydrate type and fat saturation independently regulate hepatic cholesterol and LDL metabolism in guinea pigs. *The Journal of Nutritional Biochemistry,* 9(1), 37-46.

390. Fernandez, M. L., and McNamara, D. J. (1990). High-density lipoprotein binding to guinea-pig hepatic membranes. Comparison of guinea-pig and human ligands. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism,* 1042(1), 142-145.

391. Guo, L. S., Meng, M., Hamilton, R. L., and Ostwald, R. (1977). Changes in the plasma lipoprotein-apoproteins of guinea pigs in response to dietary cholesterol. *Biochemistry,* 16(26), 5807-5812.

392. deOgburn, R., Leite, J. O., Ratliff, J., Volek, J. S., McGrane, M. M., and Fernandez, M. L. (2012). Effects of increased dietary cholesterol with carbohydrate restriction on hepatic lipid metabolism in Guinea pigs. *Comparative medicine*, 62(2), 109-115.

393. Tendler, D., Lin, S., Yancy, W. S., Mavropoulos, J., Sylvestre, P., Rockey, D. C., and Westman, E. C. (2007). The effect of a low-carbohydrate, ketogenic diet on nonalcoholic fatty liver disease: a pilot study. *Digestive diseases and sciences*, 52, 589-593.

394. Ya, L., and Lu, Z. (2017). Differences in ABCA1 R219K polymorphisms and serum indexes in Alzheimer and Parkinson Diseases in Northern China. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 23, 4591.

395. Zhao, Y., and Gagliano Taliun, S. A. (2022). Lipid-lowering drug targets and Parkinson's disease: A sex-specific Mendelian randomization study. *Frontiers in neurology*, 13, 940118.

396. Benn, M., Nordestgaard, B. G., Frikke-Schmidt, R., and Tybjærg-Hansen, A. (2017). Low LDL cholesterol, PCSK9 and HMGCR genetic variation, and risk of Alzheimer's disease and Parkinson's disease: Mendelian randomisation study. *BMJ*, 357.

397. Liu, G., Shi, M., Mosley, J. D., Weng, C., Zhang, Y., Lee, M. T. M., Jarvik, G. P., Hakonarson, H., Namjou-Khales, B., Sleiman, P., Luo, Y., Mentch, F., Denny, J. C., Linton, M. F., Wei, W. Q., Stein, C. M., and Feng, Q. (2021). A Mendelian randomization approach using 3-HMG-coenzyme-A reductase gene variation to evaluate the association of statin-induced low-density lipoprotein cholesterol lowering with noncardiovascular disease phenotypes. *JAMA network open*, 4(6), e2112820-e2112820.

398. Williams, D. M., Bandres-Ciga, S., Heilbron, K., Hinds, D., Noyce, A. J., 23andMe Research Team, and International Parkinson's Disease Genomics Consortium. (2020). Evaluating lipid-lowering drug targets for Parkinson's disease prevention with mendelian randomization. *Annals of Neurology*, 88(5), 1043-1047.

EKLER

EK-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı :
Konu :

03.01.2024

Sayın Prof. Dr. Çigdem ELMAS
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Daha önce 12.04.2022 tarih ve E.338090 sayılı yazımız ile onay alan araştırmacı grubu Çiğdem ELMAS, Pınar KAÇAMAK, Hatice Ayşe BORA TOKÇAER ve Seniha Selcen BABAOĞLU AYDAŞ'dan oluşan G.Ü.ET-22.044 kod numaralı *"Kobaylarda Apolipoprotein B-100'ün Parkinson Hastalığı ile İlişkili Genler Üzerindeki Etkisinin Araştırılması"* başlıklı çalışmanız ile ilgili vermiş olduğunuz 20.12.2023 tarihli dilekçeniz **22.12.2023** tarih ve **12** sayılı Kurul toplantısında incelenmiş olup,

Dilekçede; Pınar KAÇAMAK'ın doktora tez çalışması olan araştırmanın tüm deney aşamalarının tamamlandığı, ancak; araştırmanın başlığındaki "etki" kelimesinin toksik bir ajan uygulamasını çağrıştırdığı gerekçesiyle çalışmanızın başlığının "*Kobaylarda Apolipoprotein B ve Parkinson Hastalığı ile İlişkili Genler Arasındaki Korelasyonun Araştırılması*" olarak değiştirilmesi ile ilgili talebinizin uygun bulunduğuna oybirliği ile karar verilmiş olup, karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

EK-2. Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Toplantı Katılım Listesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 03.01.2024 E.841869

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 22/12/2023	TOPLANTI SAYISI : 12
ADI-SOYADI	**İMZA**
Prof.Dr.Mustafa ARSLAN (Başkan)	
Prof.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.İlker ŞEN	
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Prof.Dr.İpek SÜNTAR	
Prof.Dr.Serkan YAVUZ	
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER	
Prof.Dr.Fatma Gökçe APAYDIN	
Prof.Dr.Elvan ANADOL	
Doç.Dr.Yeliz KILINÇ	
Doç.Dr.Zeliha Aycan ÖZDEMİRKAN	
Doç.Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ	
Dr.Öğr.Üyesi Şevki Mustafa DEMİRÖZ	
Dr.Öğr.Üyesi Sühan GÜRBÜZ	
Dr.Öğr.Üyesi Zeynep YIĞMAN	
Dr.Öğr.Üyesi Nur Banu BAL	
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM	
Öğr.Gör.Dr. Beyza AYDOĞAN	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	

EK-3. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Katılım Sertifikası



XIX. DENEY HAYVANLARI UYGULAMA VE ETİK KURSU

23-31 Mayıs 2016

KATILIM SERTİFİKASI

Sayın, Pınar KAŞAMAK

Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı ile Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi tarafından, 23-31 Mayıs 2016 tarihleri arasında düzenlenen *"Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kurs XIX"* a katılarak, Teorik ve Pratik Eğitimleri başarı ile tamamlamış ve bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Kaçamak, Pınar
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri
Medeni hali
Telefon
e-mail

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi/Histoloji-Embriyoloji	2018-Devam ediyor
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/Histoloji-Embriyoloji	2018
Lisans	Ankara Üniversitesi/Biyoloji Bölümü	2011
Lise	Y.D.A. Salihli Lisesi	2006

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2018-Devam ediyor	Gazi Üniversitesi	Arş. Gör. (35. Madde)
2018-2018	Bozok Üniversitesi	Arş. Gör.
2015-2017	Gazi Üniversitesi	Arş. Gör. (35. Madde)
2015-2015	Bozok Üniversitesi	Arş. Gör.

Yabancı Dil

İngilizce

Bilimsel Kuruluslara Üyelikler

- Türk Elektron Mikroskopi Derneği, Üye , 2021
- Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği, Üye , 2016

Bildiriler

- Ozoğul, C., Başer Demircan, I., Barun, S., Kavutcu, M., Ilhan, M., Akyol, S. N., Hirfanoğlu, I. M., Bilgi, M., Sarıbaş, G. S., Kacamak, P. ve Emniyet, A. A. Immunohistochemical study of Osteopontin and Bcl-2 gene expression in kidney tissue in histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) solution prepared with N-acetyl L-carnitine. 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, 18-21 May 2017, Antalya-Turkey (Poster sunumu).

- Kaçamak, P., Özoğul, C., Sarıbaş, G. S., Dizakar Akarca, S. Özen. ve Emniyet, A. A. Adolesan dişi sıçanlarda izotretinoinin oosit maturasyonu üzerine etkisi. 1th International Health Science and Life Congress, 02-05 May 2018, Burdur-Turkey (Poster Sunumu).

- Sert Emniyet, A. A., Özoğul, C., Sarıbaş, G. S., Dizakar Akarca, S. Özen. ve Kaçamak, P. Adolesan dişi ratlarda izotretinoinin follikül aktivasyonundaki etkilerinin incelenmesi. 1th International Health Science and Life Congress, 02-05 May 2018, Burdur-Turkey (Poster Sunumu).

Makaleler

- Kacamak, P., Ozogul, C., Saribas, G. S., Akarca Dizakar, S. O., & Emniyet Sert, A. A. (2020). The Effect of Isotretinoin on Oocyte Maturation in Adolescent Female Rats. Gynecologic and Obstetric Investigation, 85(4), 327-335.

- Kaçamak, P., & Elmas, Ç. (2023). Role of Apolipoproteins in Neurodegenerative Diseases. Journal of Gazi University Health Sciences Institute, 5(3), 122-133.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR…