

T.C
SAĞLIK BAKANLIĞI
GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
NÖROLOJİ KLİNİĞİ
ŞEF: DR.NİHAL IŞIK

**İDİOPATİK PARKİNSON
HASTALIĞI ETYOPATOGENEZİNDE
SERULOPLAZMİNİN YERİ VE
PROTON MR SPEKTROSKOPİ İLE
VERİFİKASYONU**

DR. REYHAN GÜRER
(Uzmanlık Tezi)

İSTANBUL-2005

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	3
GİRİŞ ve AMAÇ	4- 7
GENEL BİLGİLER	8-38
MATERYAL VE METOD	39-42
BULGULAR	43-53
TARTIŞMA	54-58
SONUÇ VE ÖZET	59-60
KAYNAKLAR	61-73

KISALTMALAR :

- 1.MRG :** Manyetik Rezonans Görüntüleme
- 2.MRS :** Manyetik Rezonans Spektroskopi
- 3.NMDA :** N-metil-D-Aspartat
- 4.NO :** Nitrik Oksit
- 5.HT :** Hipertansiyon
- 6.DM :** Diabetes Mellitus
- 7.PRESS :** Point Resolved Spectroscopy
- 8.STEAM :** Stimulated-Echo Acquisition Mode
- 9.PPM :** parts per million
- 10.TE :** Eko süresi
- 11.MI :** Myoinositol
- 12.Cho :** Kolin
- 13.Cr :** Kreatin
- 14.NAA :** N-asetil aspartat
- 15.GLX :** Glutamin ve Glutamat
- 16.AH :** Alzheimer Hastalığı
- 17.DA:** Dopamin
- 18.DAT:** Dopamin transporter
- 19.SOD:** Superoksitdismutaz
- 20.ATP:** Adenozintrifosfat
- 21.MAO:** Monoaminoksidaz
- 22.SN:** Substantia nigra
- 23.Fe:** Demir
- 24.Cu:** Bakır
- 25.IPH:** Idiopatik Parkinson hastalığı

ÖNSÖZ

Hastanemizde sağladığı çalışma ortamı ve katkıları için Başhekim sayın Doç. Dr. Rafet Yiğitbaşı'na,

Tezimin hazırlanmasında ve eğitimim süresince yetişmemde, büyük emeği geçen değerli hocam, Klinik Şefi sayın Dr. Nihal Işık'a

Rotasyon eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım sayın Prof. Dr. Mefkûre Eraksoy'a, Prof Dr. Esat Göktepe'ye, Prof. Dr. Hilmi Çiftçi'ye,

Bilgi ve deneyimlerinden yararlanma olanağı bulduğum Klinik Şef Yardımcısı sayın Dr. Sevdâ Gökçe'er'e,

Asistanlığım boyunca yardım ve desteğini esirgemeyen Başasistanımız sayın Dr. Taner Seleker'e,

Tezimin yazılmasında bilgilerinden yararlandığım Radyoloji Klinik Şefi sayın Dr. İhsan Kuru'ya ve Radyoloji Uzmanı sayın Dr. Tunahan Ayaz'a

Yardım ve desteklerini esirgemeyen klinik uzman doktorlarımız sayın Dr. Cüneyt Başbuğu, Dr. Evin Akyüz ve Dr. Oya Demirci Ulsan'a,

Eğitimim süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma ve hastalarımın izlenmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen servis hemşirelerine,

Her zaman yanımda olan sevgili aileme ve desteği nedeniyle sevgili eşim Serkan Gürer'e,

Teşekkür eder, saygılar sunarım.

Dr. Reyhan Gürer

GİRİŞ VE AMAÇ

Beyinde serbest radikal oluşumu farklı biyokimyasal mekanizmalarla gerçekleşmektedir. Bunlar arasında, katekolamin ve dopamin monoaminoksidaz katalizörlüğündeki oksidasyon tepkimeleri, prostaglandin metabolizması, Fenton'un demir katalizi, mikroglial hücrelerdeki makrofaj benzeri aktivasyon ve beyin endotel hücreleri ile nöronların nitrik oksit (NO) sentezi sayılabilir (1,2,3,4,5,6).

Nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde eksitotoksik mekanizmalar, mitokondriyal enerji metabolizması ve intrasellüler kalsiyum dengesindeki bozuklukların etken olabileceğine ilişkin bilgiler mevcuttur. Son yıllarda çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda pek çok nörodejeneratif hastalığın etyolojisinde serbest radikal oluşumunun önemli rolü olduğuna ilişkin ipuçları elde edilmiştir (1,6,7). Bu hastalıklar arasında serebrovasküler olaylar, travma, epilepsi, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, Alzheimer hastalığı, Multipl skleroz ve çeşitli demiyelinizan hastalıklar gibi beyin ve sinir sistemi hastalıkları yer almaktadır (6,7). Bu hastalıklarda görülen hücre ölümünün nekroz veya apoptoz şeklinde olabildiği gösterilmiş.

Parkinson hastalığı tüm etnik gruplarda görülen, hafifçe erkek predominansına sahip bir hastalıktır (8). Prevalansı 65-90 yaşları arasında artmaktadır. Tüm populasyonun % 0.3'ünü etkilemekle beraber, bu oran 65 yaşın üzerinde %3'e yükselmektedir. Hastaların % 5-10'unda semptomlar 40 yaşın altında ortaya çıkmaktadır.

Parkinson hastalığında temel patolojik değişiklikler dopaminerjik nöronların (DA) kaybı ve nigro-striatal sistemde Lewy cisimciklerinin ortaya çıkışıdır. Hastalığın geleneksel tanısı, klinik bulgular ve dopamin tedavisine yanıt eşliğinde konulur. Erken tedaviye başlanan hastalarda prognozun daha iyi seyrettiği ortaya konmuştur. Ancak, parkinson'un erken tanısı oldukça güçtür. Hastalıkta patolojik değişiklikler stereotipik olup, mezensefalondan alınan kesitlerde, substantia nigra alanında, melanin pigmentlerinin çok azalmış olduğu ya da yok olduğu gözlenmiştir. Mikroskopik incelemede zona kompaktada nöron kaybı olduğu ve yaşayan nöronların anormal oldukları ve intrasitoplazmik hiyalin cisimcikleri (Lewy body) içerdikleri saptanmıştır. Patolojik değişiklikler substantia nigra ile sınırlı değildir. Başta

serebral korteks, bazal ganglia, talamus, okülomotor nükleus, lokus seruleus ve vagusun dorsal motor nükleusu olmak üzere, tüm beyin ve beyin sapını tutan yaygın nöron kaybı vardır.

PET tekniği ile erken dönem Parkinson hastalığında bazal ganglionlarda (özellikle putamende) dopamin transporter (DAT)'ın anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır (9). Bernheimer, putamende dopamin seviyesinin % 80'nin altına düşmedikçe, klinik bulguların ortaya çıkmadığını ifade etmiştir (10). Bu da erken ve subklinik tanının önemini vurgulamaktadır. Ek olarak, Otsuka ve ark . (11), putaminal bölgede 18 F-dopa uptake'nin azaldığını tespit etmişlerdir.

Yaş artışı ile doğru orantılı olarak her insanda, dopaminerjik nöron kaybı olmaktadır. Normalde, bu kayıp, Parkinson hastalığının semptomlarını ortaya çıkarmak için gerekli dopamin sentezindeki azalma düzeyinin çok altındadır. Öte yandan, substantia nigradaki nöron kaybını artıran bir genetik yatkınlık ya da infeksiyon, travma, toksin veya serbest radikal üretimi gibi süreci hızlandıran risk faktörleri olabilir. Günümüzde, özellikle serbest radikal üretimi, Parkinson hastalığı patogenezi için tercih edilen bir hipotezdir. (12)

Seruloplazmin hem bakır hem de demir metabolizmasında görevli antioksidandır. Seruloplazmin yetersizliğinin, artmış lipid peroksidasyonu, azalmış mitokondriyal enerji üretimi ve demir aracılı serbest radikallerin artması nedeniyle nöronal hücre hasarına yol açtığı bilinmektedir. Nörodejenerasyonda da rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, Parkinson hastalığında iki temel kilit nokta, erken tanıyı sağlayabilecek ve hastalığın seyrinin takibinde yardımcı olabilecek yardımcı radyolojik veya biokimyasal yöntemlerin geliştirilmesi ve etyolojik faktörlerin net olarak ortaya konmasıdır.

Bu yöntemlerden birisi de Manyetik Rezonans Spektroskopi'dir (MRS). İnvazif olmayan bir görüntüleme tetkiği olup, doku metabolitleri hakkında kimyasal bilgi vermektedir. Beyin dokusunun incelenmesinde hem hidrojen-1 hem fosfor-31 rezonansları kullanılmıştır; ancak protonlar için manyetik rezonans duyarlılığı, fosforla ilgili duyarlılıktan çok daha fazladır.

Proton (H-1) Manyetik Rezonans Spektroskopisi (H-1 MRS), belirli hastalıkların ardındaki fizyopatolojinin aydınlatılmasında yararlı bir araştırma aracıdır.

Bu çalışmada amaç, idiopatik Parkinson hastalığında H-1 MRS bulgularını ortaya koymak, değerleri asimetric klinik bulgulara sahip olan hastalarda, taraf farklılığı açısından ve aynı zamanda normal sağlıklı kontrol vaka değerleri ile karşılaştırmak, bu değerlerin risk faktörleri, hastalığın klinik seyri ve levodopa tedavisi ile bağlantısı olup olmadığını ortaya koymak ve hem antioksidan özelliğe sahip olup, hem de demir ve bakır metabolizmasında oldukça önemli rolü olan serüloplazminin serum düzeyi ile H-1 MRS verilerinin korelasyonunu değerlendirmektir.

NÖRODEJENERASYON

Sinir sistemi oldukça kompleks biyokimyasal, fizyolojik ve anatomik özelliklere sahiptir. Nöronlar arası ileti elektriksel veya kimyasal haberci moleküller tarafından sağlanmaktadır. Bu iletişim sisteminin düzenlenebilmesi için beyinde enerji ihtiyacının sağlıklı olarak karşılanması gereklidir (13,5,14).

Beyin dokusu enerjisini yalnızca oksidatif metabolizmadan elde eder ve vücuttaki oksijenin büyük bölümünü kullanır. Nöronal oksidatif fosforilasyon esnasında mitokondrial elektron transport zincirinden yüksek enerjili elektronların kaçışı serbest radikallerin oluşumunu sağlar. Beyin dokusu oksidan strese özellikle duyarlıdır. Çünkü, beyin total vücut ağırlığının % 2' sini oluşturmasına rağmen, total vücut oksijeninin % 20' sini kullanır. Nöronların membran yüzeyi sitoplazma hacmine oranlandığında, bu oranın membran yüzeyi lehine arttığı bilinmektedir. Beyin hücre zarları büyük oranda doymamış yağ asitlerinden oluşur, bunlar lipid peroksidasyon reaksiyonlarında serbest radikallerin başlıca substratlarıdır. Bununla beraber beyinin savunma mekanizması oldukça zayıftır, hemen hemen hiç katalaz içermez, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimleri ile glutatyon ve E vitamini düzeyleri sınırlıdır. Nöronal ağ anatomik açıdan hasara uğramaya uygundur. Periferik hasara bağlı olarak aksonların uzama yeteneği de sınırlıdır. Rejenerasyon kapasitesi sınırlı olan beyinde, serbest radikallerin oluşmasını sağlayan metaller (örneğin demir) spesifik bölgelerde birikebilir (13,5).

Harman (15), yaşlanmayla ilgili teorisinde, oksijen kaynaklı serbest radikallerin, aerobik organizmaların hücrelerinde veya hücreler arasında kendiliğinden kimyasal modifikasyonlara neden olduğunu ve biyolojik olarak dejenerasyonun oluştuğunu ileri sürmüştür. Beyin nörokimyasal oksidasyon ve otooksidasyonun yüksek olduğu bir organdır.

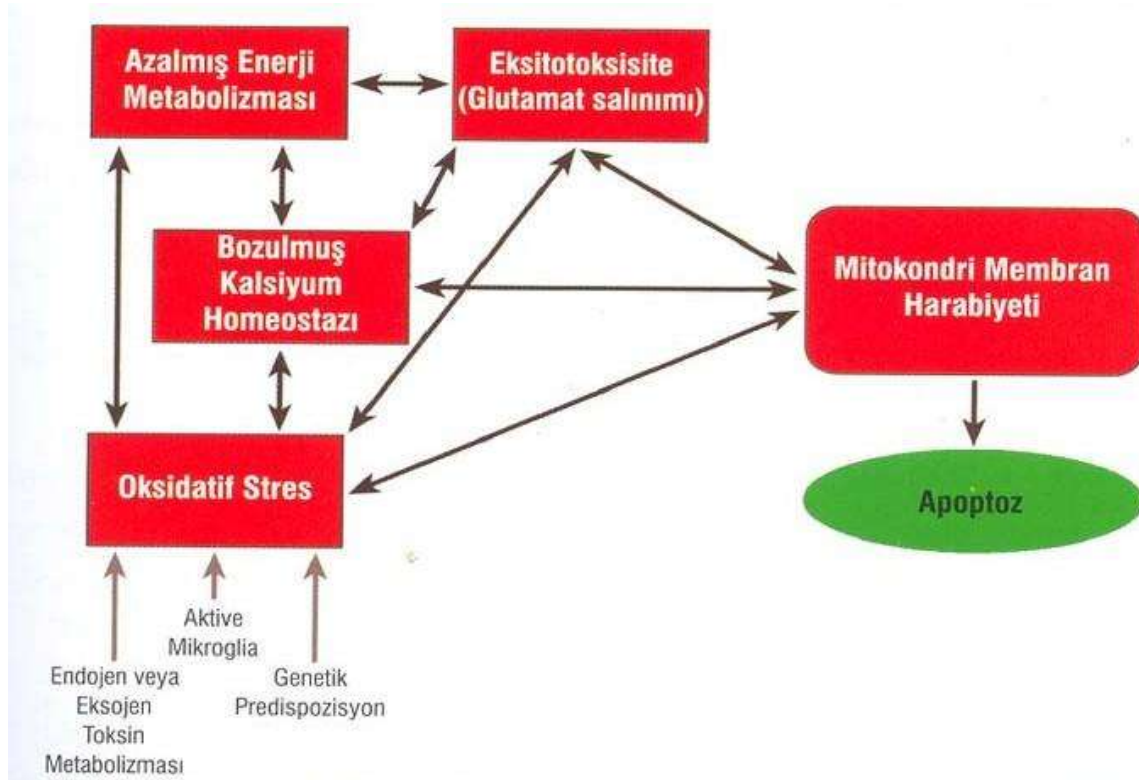
Belirli beyin bölgelerinde ortak özelliklere sahip nöron popülasyonlarının ölümü sonucunda nörodejeneratif hastalıklar ortaya çıkmaktadır (16). Nörodejeneratif hastalıklar, farklı klinik fenotiplere ve genetik etyolojiye sahip bir grup heterojen hastalıktır. Bunlar arasında Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı gibi nörodejeneratif

hastalıklarla birlikte, epilepsi, Friedrich ataksisi, amiyotrofik lateral skleroz (ALS) yer almaktadır. (1,17,16)

NÖRONAL HÜCRE HASARININ DÖRT BASAMAĞI

Nörodejeneratif prosesler arasındaki sinerjistik etkileşim Parkinson Hastalığının gelişimini açıklayabilir. Nöronal hücre hasarının temel 4 basamağı şu şekilde sıralanabilir:

1. Azalmış enerji metabolizması
2. Oksidatif stres
3. Ekzotoksisite (Glutamat salınımı)
4. Bozulmuş kalsiyum (Ca^{+2}) homeostazı ve enzim sistemlerinin indüksiyonu



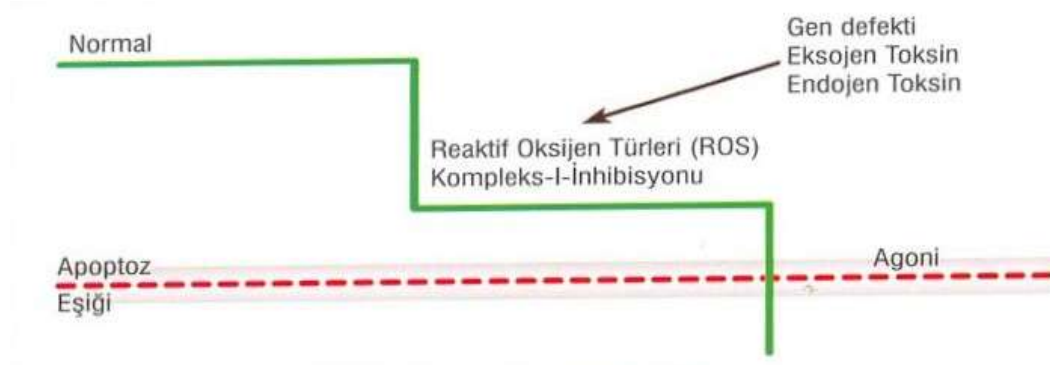
Bu basamaklar özellikle mitokondri membranında harabiyete yol açar ve farklı uyarılarla apoptozu başlatabilir.

AZALMIŞ ENERJİ METABOLİZMASI

Mitokondri, enerji akışının yönlendirildiği ve ATP' nin elde edildiği organel olarak tüm vücut hücrelerinde olduğu gibi nöronlarda da önemli bir yer tutmaktadır. Krebs döngüsünde oluşan elektronlar NADH+H⁺ ile FADH₂' de toplanır ve mitokondri iç zarında yer alan enzim yapısında proteinler üzerinden elektrokimyasal gradyanın oluşturulmasına katkıda bulunurlar. Bu enzim sisteminde yer alan NADH dehidrogenaz (Kompleks-I) ve süksinat dehidrogenaz (kompleks-II) elektron transport zincirinde başlangıç yolunu oluşturur. Elektronlar bu sisteme flavin mononükleotidler ve kompleks 1 ve 2'nin demir-sülfür merkezlerinden giriş yaparak, ubikinona (koenzim Q) taşınırlar. Ubikinol-sitokrom c oksidoredüktaz (kompleks III) sitokrom b, sitokrom c 1 ve Rieske demir-kükürt proteininden ibaret önemli bir komplekstir. Koenzim Q' den kompleks III 'e transfer olan elektronlar, bakır içeren ve enzim olan sitokrom c oksidaza (kompleks IV) geçerler. Son olarak da elektronlar oksijen molekülüne aktarılarak, ATP sentaz'dan (kompleks V) bir molekül ATP'nin sentezini gerçekleştirirler. Elektronlar kompleks I/II' den III. ve IV. Komplekslere geçiş yaparken protonlar da mitokondriyal iç zardan geçerek, bir elektrokimyasal gradyan oluşumuna katkıda bulunurlar (17,18,19).

Normal koşullarda elektronlar bir kompleksten diğerine aktarılırken bazen kaçaklar meydana gelmektedir. Bu kaçaklar reaktif oksijen türlerinin (ROT) (örn: superoksit radikali, singlet oksijen, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, hidroperoksil radikali, hipoklorik asit/hipoklorür) oluşumuna yol açmaktadır (16,15).

Parkinson hastalığı nedeniyle hayatını kaybeden hastaların beyin dokularında gerçekleştirilen post-mortem araştırmalarda sadece substansia nigra pars kompaktada kompleks-I aktivitesinde azalma saptanmıştır (20). Mitokondriyal iç membranın elektron transport komplekslerinin inhibitörü olan MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6 tetrahidropiridin) (MPP⁺ metabolitleri aracılığıyla) gibi nörotoksinler, insan ve hayvan modellerinde Parkinson hastalığını aktive etmektedir. Daha ileri bir Kompleks-I inhibitörü olan rotenon, sıçanlarda benzer bir etkiyi indüklemekte ve Parkinson hastalığında tetikleyici model olarak kullanılmaktadır. Sonuçta, mitokondriyal Kompleks-I defekti apoptozun tetiklenmesinde santral rol oynamaktadır.



Mitokondrileri hasarlanması, nöron kurtarıcı etkisi olmayan, fakat nöroprotektif etkisi olan terapötik maddelerin geliştirilmesi açısından bir çıkış noktasıdır. Bu konuda özellikle, Parkinson hastalığında substansia nigradaki patojenik değişiklikler ve normal şartlarda elektrokimyasal proton konsantrasyon gradyeni ile idame edilen mitokondriyal membran potansiyellerinde azalma arasındaki ilişki ilgi çekmektedir. (21). Bu gradyenlerde depolanan enerji, mitokondrilerin sitoplazmik membran bölgesindeki adenozintrifosfat (ATP) sentezinin proton transportu ile ekzoplazmik alandan veziküllerin içine taşınması amacıyla kullanılmaktadır. Mitokondriler, mitokondriyal iç membran hasarlanmadığı sürece ATP sentezler.

Membran geçirgenliğine neden olan düşük miktarda temizleyici madde varlığında, ATP sentezi kontrol edilir, çünkü bu şartlar altında membranda elektriksel potansiyel ve proton gradyeninin devamlılığı sağlanmaz (22). Substansia nigrada patojenik değişiklikler, serbest radikal oluşumunu ve mitokondriyal membran potansiyelinde azalma ile seyrederek.

Bu nedenle nöronal hücrelerde apoptotik eşik azalır. Bu agoni durumuna genellikle, hücrelerde apoptoza neden olan hipoksi eşlik eder.

II. OKSİDATİF STRES

Özellikle mitokondiler, endoplazmik retikulum ve çekirdek membranında yer alan serbest radikaller aracılığı ile oluşan oksidatif stres, Parkinson hastalığında nörodejenerasyon oluşumu ve ilerleme sürecinde önemli rol oynamaktadır. Mitokondrilerde oksidatif fosforilasyon ile moleküler oksijenin suya redüksiyonu sırasında reaktif oksijen türleri olarak tanımlanan süperoksid radikal, hidrojenperoksid, hidroksil radikali oluşur. Serbest radikal üretimi ile, artmış kalsiyum akımı, nitrojenmonooksid sentaz (NOS) aktivasyonu, amiloid-beta-peptid ve enzimlerde yaşa bağlı fonksiyon kaybı gerçekleşir. Ayrıca, in vitro veriler, glutamat stimülasyonu ile ilişkili nöronların oksijen radikalleri oluşumu ile etkileştiklerini göstermiştir. Bu radikaller, tekrar hem glutamat salınımına hemde geri alım inhibisyonuna yol açarlar; böylece kısır döngü gerçekleşir (23).

Mitokondriyal solunum zincirinin Kompleks I ile inhibisyonu sonucu hasarlanması oksidatif stresi aktive edebilir. Örnek olarak 6-OHDA gibi nörotoksinler veya L-dopa'ya karşı ekspozisyon verebilir. Ayrıca, 4-hidroksi-2-nonenal (HNE), malondialdehit (MDA) ve 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHDG) gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin oluşumu (24), mitokondriyal solunum zincirinin inhibisyonuna (Kompleks I ve II) ve apoptoz gerçekleşene kadar kaspaz kaskadının aktivasyonuna neden olur (20).

Güçlü antioksidanlar, dopa toksisitesinin etkili blokerleridir (25). Dopaminerjik nöronlarda monoaminoksidaz (MAO) aracılığı ile dopaminin oksidatif deaminasyonu ve otooksidasyonu ile hidrojen peroksid ve diğer oksijen radikalleri oluşur. Tersine MAO- inhibitörleri, radikal üretimini inhibe edebilirler.

Melanin, dopamin veya levodopa otooksidasyonunun son ürünüdür. Melanin oluşumu deneysel olarak, oksidasyon seviyesi ile ilgili bilgi sağlamaktadır. Pigmente nöronların (özellikle pars kompaktada lokalize olan, nöromelanin içeren Tip I nöronlar) reyonel duyarlılığı, nöromelanin içeren hücrelere bağlı olabilir. Melanin MPP+ veya demir gibi metallerle bağ oluşturabilir. Demir, serbest radikal oluşumunu ve böylece membran yapılarının lipid peroksidasyonunu sağlar (26).

Serbest Radikallerin Neden Olduğu Hücree Hasarları

Serbest radikaller, hücrelerin lipit, protein, DNA ve karbonhidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler (2,27,28,15). Bu etkilerden ilki hücre membranında gözlenir. Hücre zarında bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir, çok zararlıdır ve geri dönüşümsüzdür (29,2,27,28).

Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenmesi ise aminoasit kompozisyonuna bağımlılık gösterir. Doymamış bağ veya sülfür içeren amino asitler serbest radikaller için önemli birer hedef oluşturarak sülfür ve karbon merkezli radikallerin oluşumuna neden olurlar. Özellikle hem proteinleri serbest radikaller için önemli birer hedeftir (29,2,28).

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda H₂O₂, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı çeşitli hastalıkların patolojisinde önemli rol oynarlar (29,2,28)

Vücudumuzda bulunan antioksidan moleküller arasında ‘antioksidan enzimler’ veya enzim olmayan bileşikler yer almaktadır (30,31).

Antioksidan Enzimler	Diğer Antioksidanlar
Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz sistemi Süperoksit Dismutaz (SOD) Katalaz Glutasyon Peroksidaz Glutasyon S- transferaz Hidroperoksidaz	Alpha Tokoferol* Beta – karoten* Askorbik asit Melatonin Ürik Asit Serüloplazmin Transferrin Laktoferrin Ferritin Selenyum Albumin Glutasyon Bilirubin Ubikinon * Lipit fazda bulunanlar

Tablo :Antioksidan savunma sisteminin bileşenleri

III. EKSİTOTOKSİK MEKANİZMALAR

Sinapslar sinir hücreleri arası bağlantı bölgeleridir. Eksitator ve inhibitör sinapslar mevcuttur. İnhibitör sinapslar postsinaptik membranda depolarizasyonu engellemeyi amaçlar. Normal koşullarda aksonlar ile hücreler arası sıvı arasında belli bir iyon dengesi mevcuttur. Bu dengenin bozulması ile iyon alışverişi gerçekleşir ve sinirsel uyarının bir nörondan diğerine iletilmesi gerçekleşmiş olur, yani eksitasyon sağlanır. Sinir hücresinin zarı kritik bir düzeye kadar depolarize olduğundan aksiyon potansiyeli oluşur. Aksiyon potansiyelleri kısa bir hiperpolarizasyon ile sonlanır (32).

Eksitator nörotransmitterler kendilerine özgü reseptörlere bağlanarak, nöronların stimülasyonuna neden olurlar. Bu stimulus katyonların geçişine izin veren iyon kanallarının açılmasına veya hücre içinde kalsiyum artışına neden olacak G proteinlerinin aktivasyonuna neden olur (33).

Eksitator amino asitlerden L-glutamat ve L-aspartat sinir sistemindeki sinaptik bağlantıların gelişimsel plastisinden sorumludur. L-glutamat omurgalı canlıların santral sinir sisteminde

bulunan başlıca eksitator nörotransmitterlerden biridir. Normal koşullarda glutamat beyinde, kavrama, hafıza, hareket ve duyarlılık gibi farklı işlevlerin yerine getirilmesinden sorumludur ve bu fonksiyonları kendi reseptörleri ile etkileşerek yapar (34). Glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılması nöronlarda hasara veya ölüme neden olmaktadır. Olney, retinal sinir hücrelerinde meydana gelen bu nörotoksik olaya 'eksitotoksosite' adını vermiştir.

Glutamat reseptörlerinin özellikleri, moleküler klonlama, farmakolojik antagonizma ve elektrofizyoloji teknikleri aracılığıyla aydınlatılmıştır. Buna göre iyonotropik ve metabotropik olmak üzere iki tip glutamat reseptörü tanımlanmıştır. İyonotropik glutamat reseptörleri de N-metil-D-aspartat (NMDA) ve non-NMDA (AMPA ve kainat) olmak üzere iki grupta toplanmıştır. İyonotropik glutamat reseptörlerinin stimülasyonu hücre zarında depolarizasyona neden olmakta, pozitif yüklü iyonların hücre içine göçünü sağlamakta ve voltaj aracılı kalsiyum kanallarını aktive etmektedir. Hücre içine voltaj bağımlı kanallar aracılığıyla kalsiyumun göçü glutamat aracılı eksitotoksositeye neden olmaktadır. Metabotropik glutamat reseptörlerinin stimülasyonu ise G proteini aktivasyonuna neden olmaktadır. G proteini aracılığıyla ilerleyen uyarı hücre içinde inozitol trifosfat (IP₃)'ı oluşturur ve intrasellüler kaynaklardan kalsiyum açığa çıkışını sağlayarak eksitotoksositeye neden olur (33,34,35). İyonotropik kanallar postsinaptik membranda yer alıp milisaniye düzeyinde yanıt oluştururken, metabotropik reseptörler hem pre hem post sinaptik membranda yer almakta ve ancak saniye düzeyinde yanıt oluşturabilmektedir (35).

IV. INTRASELLÜLER KALSİYUM HOMEOSTAZİSİ VE BOZUKLUKLARI

Intrasellüler Ca²⁺ homeostazının devamlılığı nöronların yaşamaları açısından önemlidir. Kalsiyum birbirinden bağımsız ve farklı pek çok fizyolojik ve metabolik aktiviteden sorumludur (36). En önemli görevlerinden biri de intrasellüler mesajcı rolüdür. Ca²⁺ intrasellüler (endoplazmik retikulum ve mitokondri) ve ekstrasellüler olmak üzere iki kaynaktan açığa çıkmakta, hücreye sinyal iletebilmekte ve bu sinyalin derecesini kontrol edebilmektedir (36). Endoplazmik retikulumdan salınım ve mitokondriyal depolamada artış nedeniyle intrasellüler kalsiyum konsantrasyonlarında yükselme sonucunda protein fosforilasyonu, proteoliz, DNA fragmantasyonu ve membran yapılanması ile sonuçlanan çok sayıda enzim sisteminin nonspesifik indüksiyonu gerçekleşir.

Ekzitotoksik mekanizmada ve/veya oksidatif fosforilasyon sisteminde meydana gelebilecek bozukluklar nöronun kronik toksisiteye maruz kalmasına neden olacaktır. Eksitotoksik mekanizmada NMDA reseptörlerinin açık kalması Ca^{+2} iyonlarının hücre içine göçünü arttırmakta, mitokondriyal elektron transport zincirindeki defektler intrasellüler enerji açığına neden olmaktadır. Bu sorunlar Na^{+}/K^{+} ATP'az aktivitesini düşürmekte ve membran potansiyelini bozmaktadır. Na^{+}/K^{+} ATPaz'ın defektif fonksiyonu voltaj bağımlı kanalların daha uzun süre açık kalmasını sağlar ve hücre içine Ca^{+2} iyonlarının akışını artırır. Hücre içindeki Ca^{+2} iyonlarının aşırı yükselişi solunum zincirini geriye dönüşümsüz olarak bloke etmekte, önce mitokondriyal fosfolipazları, ardından sitoplazmik fosfolipazları, proteazları ve endonükleazları aktifleyerek, kendini yok etmektedir (36,34,37)

APOPTOZ

Hücre ölümü iki farklı şekilde gerçekleşmektedir: nekrotik ve apoptotik hücre ölümü. Nekroz, hücrede akut, örneğin toksik hasarlar sonucu gerçekleşir ('nöronal assosiasyon'), apoptoz ise hücre süisit sürecidir (38). Nöronal hücre kültürlerinde yapılan araştırmalar her iki form arasında benzerlikler göstermiştir. Nörodejeneratif hastalıklarda apoptotik hücre ölümünü destekleyen çok sayıda deneysel kanıtlar bulunmaktadır.

Dopamin, glukokortikoidler, kalsiyum ve glutamat apoptozu fizyolojik olarak hızlandırmaktadır. Apoptozu hızlandıran patolojik süreçler büyüme faktörleri ve sitokin seviyesinde azalma, viral ve bakteriyel infeksiyonlar, etanol, amiloid-beta-peptid ve özellikle oksidatif strestir (39). Apoptozun en önemli mediatörleri reaktif oksijen türleridir.

Etkinin, radikal türlerinin dozuna bağlı olduğu düşünülmektedir. İn vitro eksitotoksikite modelinde, glutamat gibi eksitotoksik bir nörotransmitterin yüksek dozlarda nekroza, düşük dozlarda ise nöronların apoptozuna neden olduğu saptanmıştır.

PARKİNSON HASTALIĞI

180 yıl önce James Parkinson ilk kez hastalığı tanımlamış ve ismini vermiştir. Bu uzun sürece rağmen, ancak 30 yıl önce levodopa kullanıma sunulmuştur. Parkinson hastalığı nedenleri henüz tam olarak ortaya konamamış nörodejeneratif bir hastalıktır. Yaş değişmez bir risk faktörü olup, artan yaşla korele olarak hastalık prevalansı artmaktadır. Aynı yaş grubu kontrollerle karşılaştırıldığında, hastalık grubunda mortalite oranının 2-5 kat daha arttığı saptanmıştır. Hayat kalitesinde düşüşe neden olmasında önemli diğer bir problemdir (40,41,42).

TANI VE KLİNİK ÖZELLİKLER

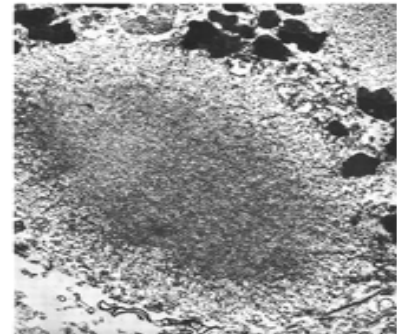
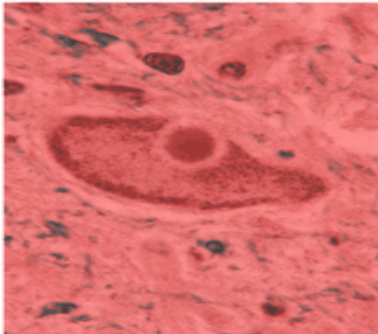
Hastalığın klasik triadı temor, rijidite ve akinezidir. Tanı klinik kriterler baz alınarak konulur. Yanlış tanı hastalıkta önemli bir problemidir. Parkinsonizm sendromunun ilaçlar, Wilson hastalığı ve diğer nörodejeneratif hastalıklar başta olmak üzere pek çok nedeni vardır. Parkinsonda nöropatolojik inceleme halen altın standart olma özelliğini korumaktadır. Tanıyı kesinleştiren biyolojik gösterge yoktur. Otopsi çalışmalarında, ölüm öncesi Parkinson tanısı almış vakaların % 24'ünde yanlış tanı konulduğu saptanmıştır (43,44).

Semptom ve bulguların asimetrik olması, istirahat tremoru varlığı ve levodopaya yanıtın olması Parkinson hastalığını, diğer nedenlere bağlı gelişen parkinsonizm tablolarından ayırır. Asimetrik başlangıç, Parkinson için tipik olmakla beraber, bu özellik kortikobazal dejenerasyon, hemiparkinsonizm-hemiatrofi tablolarında da görülebilmektedir (45). 4-6 Hz istirahat tremorunun diğer Parkinson sendromlarında oldukça nadir gözlenmesi ayırıcı tanı açısından fayda sağlayabilmekle beraber, Parkinson vakalarının yaklaşık % 25' inde bu bulguya rastlanmamaktadır (44). Parkinson vakalarında levodopaya başlangıç yanıtı % 90 oranındadır. Bu cevabın olmayışı, alternatif bir tanı lehine ipucu sağlamaktadır. Ancak, multisistem atrofide de levodopa yanıtı gözlenebilmektedir.

PATOLOJİK BULGULAR

Parkinson hastalığı seçilmiş ancak heterojen nöron popülasyonunun progresif ölümü ile karakterizedir. Bunlar substansia nigra pars kompaktadaki nöromelanin yüklü dopaminerjik nöronlar, seçilmiş beyin sapı aminojerjik nükleusları (katekominerjik ve serotonerjik), Meynert kolinerjik nükleus bazalisi, hipotalamik nöronlar, küçük kortikal nöronlar, sempatik ganglia ve bağırsaktaki parasempatik nöronları içerir. Substansia nigra pars kompaktada, nöronal kayıp, ventrolateral bölgede daha yoğundur (semptomların başlangıç aşamasında kayıp % 60-70 oranındadır). Bunu medial ventral ve dorsal bölgeler takip eder (46). Bu tip hücre kaybı Parkinson hastalığına spesifiktir, ve bu patern, normal yaşlanmaya bağlı ve striatonigral dejenerasyon ve progresif supranükleer palside gözlenen durumun tam tersidir. Sonuçta, putamenin dorsal ve intermediate bölümlerinde belirgin olmak üzere, striatal dopamin kaybı meydana gelir (47) ve bu durum akinezi ve rijidite ile sonuçlanmaktadır. Bu tip hücre kaybı paterni aynı zamanda dopamin taşıyıcıları için messenger RNA ekspresyon derecesi ile koreledir (48). Diğer önemli bir patolojik bulguda etkilenmiş beyin sapı bölgelerinde, özellikle vagusun dorsal motor nükleusunda izlenen dejeneratif ubiquitin-pozitif nöronal süreçler ve Lewy cisimcikleridir (49).

Lewy body, eozinofilik hyalin inklüzyon cisimciğidir. Cisim içinde oluşan nörofilament birikiminin değişken nörofilament ekspresyonundan ziyade, bunların normal sentezini takiben posttranslasyonel değişimine bağlı olduğu düşünülmektedir. (50). Lewy body oluşum mekanizması, Parkinson hastalığı patogenezindeki önemi ve nörodejenerasyondaki rolü halen bilinmemektedir.



Panel A : Substantia nigra dopaminerjik nöron stoplazması içinde Lewy body (hematoxylin–eosin and Luxol fast blue, x100). Ultrastrüktürel inceleme (Panel B) filament ve granüler materyalin akümülyasyonunu göstermekte (x21,560). (Dr. Catherine Bergeron.)

Lewy cisimciğinin, non spesifik bir oluşum olup, patogenez ile ilişkisi olmayan bir yapı olduğu da öne sürülmüştür. Bu tartışmanın temel noktası, Lewy body'nin Parkinsona spesifik olmayıp, diğer bir grup nörodejeneratif hastalıklarda da gözlenmesidir. Bunların nöronların dejenerasyondan korunmak adına, sekrete ettikleri toksik proteinlerin bir işareti olduğu fikri de diğer bir varsayıdır. Ancak, nörofilament subünitlerinden Lewy body oluşumu, akson içindeki nörofilamentlerin fonksiyonunu bozmakta, ve substansia nigra pars kompaktan striatuma uzanan aksonal bağlantıya hasar vermektedir. Gibb (51) ve Lees (52) Lewy body oluşumunun yaşa spesifik olarak arttığını ortaya koymuş ve 6. ve 9. decadlarda klinik olarak kesin Parkinson tanısı almış olan hastaların beyinleri üzerinde yaptıkları araştırmalarda bu oranın % 3.8'den 12.8'e yükseldiğini tespit etmişlerdir.

HÜCRE ÖLÜMÜNÜN PATOGENEZ VE MEKANİZMASI

İnsanlarda, substansia nigra pars kompakta yaklaşık 450.000 dopaminerjik nöron içerir. Pozitron emisyon tomografi (fluoro-l-dopa) ile yapılan çalışmalar ve post mortem incelemeler nigral nöron kaybının başlangıçta daha hızlı olduğunu ancak daha sonra normal yaş ilintili azalmaya eriştiğini ortaya koymaktadır (46,53).

Parkinsondan sorumlu olan hücre ölümünün mekanizması halen bilinmemektedir. SN pars kompaktaki hücre ölümünün apoptotik (54) bir mekanizma altında gerçekleştiği yaygın bir kanı olarak benimsenmesine rağmen, evrensel bir düşünce olarak kabul görmemiştir (55). Bu nörodejenerasyonda mitokondriyal disfonksiyonun, oksidatif stresin, ekzotoksinlerin, nörotrofik destek yetersizliğinin ve immün mekanizmaların rol oynadığı düşünülmektedir. Buradaki kritik soru neden spesifik nöronların hasara uğradığıdır. Bir olası cevap, bunların selektif taşıyıcı mekanizmalar yardımıyla (örn. Dopamin transporter) hem endojen hem de ekstrinsik toksik bileşimleri alma yeteleridir. Diğer olası açıklamalar, artan oksidatif stres, artan protein oksidasyonu, potansiyel toksin üretimi ve bunların detoksifiye edilebilme yetersizliği (muhtemelen nöromelanin varlığına bağlı) ve nörotrofik desteğe ihtiyaçtır.

NÖROTROFİK FAKTÖRLER

Nöronal yaşamda, gelişim sürecinde ve hasar sonrasında nörotrofik faktörler çok önemli rol oynamaktadır. Pek çok sistemde, nörotrofik desteğin yeterli olmaması apoptotik nöronal ölüme yol açmaktadır. Glial-deriveli-nörotrofik faktör (GDNF) ve beyin-deriveli nörotrofik faktör (BDNF), dopaminerjik nöronlar üzerinde koruyucu ve rejeneratif özelliğe sahiptir (56,57). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, bu desteğin azalmasının dopaminerjik hücrelerde dejenerasyona yol açtığı ortaya konmuştur.

İMMUN FAKTÖRLER

İmmun faktörlerin en azından sekonder olarak progresif nigral hücre kaybına yol açtığı ortaya konmuştur. Bu ihtimal, HLA-DR pozitif reaktif mikroglial hücre bulunması ile desteklenmiştir. Hastalığın geç dönemlerinde interlekin-1 ve tümör nekroz faktör gibi sitokinler SN pars kompaktada artan seviyelerde saptanmıştır (58).

EPİDEMİYOLOJİ VE GENETİK

Parkinson hastalığı tüm etnik gruplarda görülen, hafifçe erkek predominansına sahip bir hastalıktır (59). Prevelansı 65-90 yaşları arasında artmaktadır. Tüm popülasyonun % 0.3'ünü etkilemekle beraber, bu oran 65 yaşın üzerinde %3'e yükselmektedir. Hastaların % 5-10'unda semptomlar 40 yaşın altında ortaya çıkmaktadır.

Hastalık ilk kez endüstriyel devrim zamanında tanımlanmış olsa da, antik Hint literatüründe (4500-1000 b.c.) kampavata yani tremor ve akineziyi tanımlayan açıklamalara rastlanmıştır (60). MPTP' nin nigral hücre ölümüne yol açığının anlaşılması çevresel faktörlerin hastalık etyopatogenezinde önemli bir rolü olduğu verisini sağlamıştır.

Pek çok çalışma, diyetin hastalık patogenezindeki yerini belirlemiştir. Bunların çoğu yetersiz antioksidan alımı üzerine kuruludur. Bu çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar bulunmakla beraber, henüz yeni sonuçlanmış, kömmünite bazlı Hollanda çalışmasında Parkinson hastalarında, kontrollerle karşılaştırıldığında vitamin E alımının daha düşük olduğu saptanmıştır (61).

Genetik faktörlerin hastalıkta önemli rolü olduğuna dair giderek artan deliller mevcuttur. Monozigotik ikizler üzerinde yapılan bir çalışmada, birisinde genç başlangıçlı Parkinson olması durumunda, yüksek oranda konkordans saptanmıştır (62). Epidemiyolojik çalışmalar, yaş faktöründen başka, artan hastalık riskini işaret eden en önemli göstergenin aile öyküsü olduğunu ortaya koymuştur (63). Ancak, bazı ailelerde, ortak çevresel etkilenim faktörleri olduğu göz ardı edilmemelidir.

PARKİNSON HASTALIĞINDA SERBEST RADİKAL TOKSİSİTESİ VE ANTİOKSİDANLAR

Son yıllarda, oksidatif stresin hastalıklarla bağlantısının anlaşılmasından sonra, antioksidanların medikal tedavide kullanımının önemi daha da artmıştır. Her biyolojik sistem için geçerli olan hipotez, reaktif oksijen (ROS) ve nitrojen (RNS) deriveleri oluşum ve atılım dengesinin kurulma gerekliliğidir. ROS ve RNS fazla oksidatif stres veya normal organ fonksiyonları neticesinde oluşur. Superoksid (O_2^-), hidrojen peroksid (H_2O_2), hidroksil radikali (HO.), nitrojen oksid (NO.), peroksinitrit (ONOO-), hipoklorikasit (HOCl) normal insan metabolik yolların ürünleridir, ancak belli koşullarda artan konsantrasyonlarında, zararlı bileşikler haline dönebilirler. Süperoksid, mitokondride elektron transfer zinciri esnasında oluşur, ve *in vivo* başlangıç radikal oluşumunun en önemli radikalidir. Oksido/redoks balansını sağlamak amacıyla, organizma, ROS/RNS toksisitesinden, endojen ve ekzojen antioksidanlar yardımıyla kendisini korur.

Doğal yolla oluşan antioksidanlar, kimyasal özelliklerine, etki mekanizmalarına, içeriklerine göre sınıflanırlar:

- 1. Enzimler:** Superoksid dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz ROS/RNS'i kararlı bileşikler haline çevirerek potansiyel oksidanları uzaklaştırırlar. SOD, superoksid radikalini, hidrojen peroksida transforme eder, daha sonra da katalaz enzimi yardımıyla su ve molekuler oksijene indirgenir. Süperoksid anyonu tek başına reaktif olmamasına karşın, demir gibi metal iyonları indirger, ve en reaktif radikal olan hidroksi radikale dönüşür. Glutatyon peroksidaz, poliansature yağ asitlerinin

oksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksitlerini indirger, bunları stabil nontoksik bir molekül olan hidroksi yağ asidine indirger (64,65).

2. Yüksek moleküler ağırlıklı proteinler: Albumin, seruloplazmin, transferin ve haptoglobulin, plazmada var olup, redoks aktif metallere bağlanıp, metal-katalize serbest radikallerin oluşumunu önlerler (66). Albumin ve serüloplazmin bakır iyonlarını bağlarken, transferrin ise serbest demiri bağlamaktadır. Haptoglobulin demir içeren proteinleri bağlar ve bunların sirkülasyondan temizlenmesine katkıda bulunur. Hem serbest hem de demir içeren proteinlerin, prooksidan özellikleri olup, kolaylıkla lipid peroksidasyonuna yol açabilirler (67).

3. Düşük moleküler ağırlıklı proteinler: Lipide çözünen (tokoferol, karotenoidler, bilirubin, ve bazı polifenoller) ve suda çözünen (askorbik asit, ürik asit ve bazı fenoller) olmak üzere iki gruba ayrılır. Serbest radikalleri yıkma özellikleri nedeniyle hücre hasarını geciktirir veya inhibe ederler.

Oksijen derivesi serbest radikaller, atheroskleroz, diabet, epilepsi, inflamatuvar hastalıklar ve kanser gibi pek çok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır (68,69,70,71,72). Serbest radikaller tarafından indüklenmiş lipid peroksidasyonu, hücrenin lizisi ile sonuçlanan hücre membran hasarının temel nedenlerinden biridir. (73).

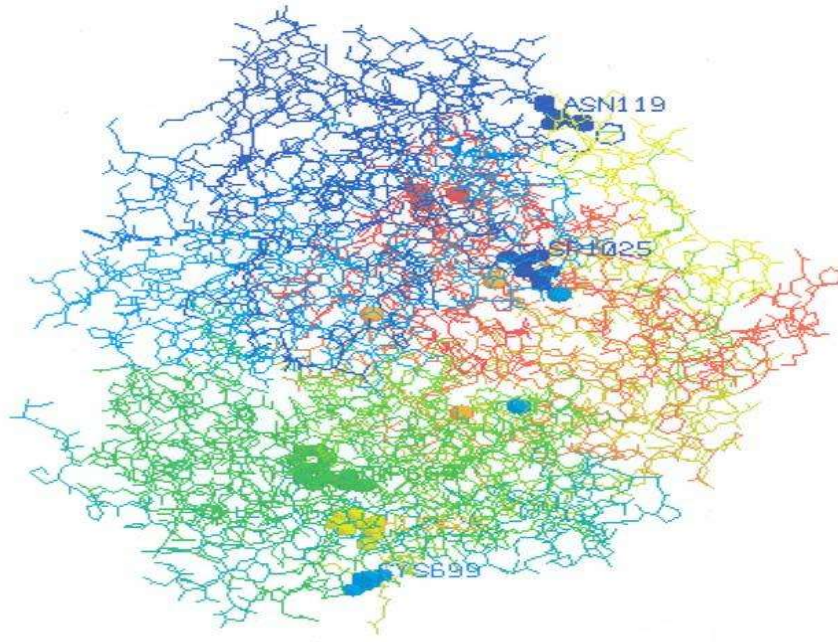
Vücut, bu potansiyel toksik ürünlere karşı vitamin E, vitamin C, vitamin A, glutatyon ve antioksidan enzimleri içeren kompleks bir antioksidan sistem kullanmaktadır. Bu enzimler glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, superoksid dismutaz ve katalaz'dır. Parkinson hastalığında substansia nigral (SN) hücrelerin progresif ölümü söz konusudur. Dopaminin oksidatif metabolizmasının sitotoksik serbest radikal oluşturma potansiyeli olması nedeniyle SN nöronları oksidan strese daha duyarlıdır. Dopamin ya monoaminoksidaz veya hidrojen peroksid (H_2O_2) oluşumu ile sonuçlanan otooksidasyon yolu ile okside olur. H_2O_2 , ferröz iyonların varlığında hidroksil radikaller oluşturarak nöronu direkt veya indirekt yolla hasara uğratar (74). SN nöronlarında yer alan nöromelanin, bölgesel spesifik birikim potansiyeline sahip olup, bu yolla demir redüksiyonu, demir-indüklenmiş lipid peroksidasyonuna ve hücre ölümüne neden olur (75,76). H_2O_2 , redükte glutatyon (GSH) ile detoksifiye olur, dolayısıyla

dopamin turnover hızının artması veya GSH eksikliği oksidatif strese yol açar. Özet olarak, serbest radikaller SN nöronlarının destrüksiyonuna neden olan en önemli ajanlardır ve bu yolla Parkinson hastalığı ortaya çıkmaktadır.

SERULOPLAZMİN YAPI VE FONKSİYONLARI

Seruloplazmin, plastisitesi ve multiple bağlanma bölgesine sahip olması nedeniyle, ‘moonlighting protein’ olarak isimlendirilmektedir (77). Seruloplazmin, organizmanın fizyolojik ve patolojik durumuna göre değişikliğe uğrayabilen, bir gen-bir yapı fonksiyonunu aşmış bir yapıdır.

Seruloplazminin açılmış formu



Serüloplazmin, karaciğerde oluşturulur. Normal bireylerde miktarı her 1 l kan plazması için 300-400 mg'dır. 6 bakır atomu içeren bir enzim proteinidir. Kandan elde edilen serüloplazmin solusyonu, açık mavi renktedir.

Serüloplazminin temel fizyolojik fonksiyonları şunlardır:

- A. Plazma ferrooksidaz aktivitesi: Demir homeostazi
- B. Askorbat oksidaz aktivitesi
- C. Bakır transport ve depolanımı
- D. Organik substratların yıkımı
- E. Antioksidan aktivite
- F. Prooksidan aktivite
- G. NO oksidasyonu
- H. Akut faz proteini

Plazma Ferrooksidaz Aktivitesi

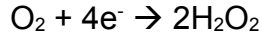
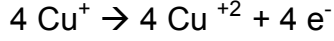
Serüloplazminin, tip 1 bakır bölgeleri uzun, dar ve negatif yüklü yarıқта yerleşmiş olup, 2 yüklü metal iyon bağlanma bölgesinin altındadır (78). Bunun hemen üst kısmında, daha zayıf yerleşmiş, negatif yüklü alan vardır ki, bu bölgenin 3 yüklü iyonlar bağlanma bölgesi olduğu düşünülmektedir. Fe(II) nin kısa transportunun yapılıp, Fe(II) donörü yardımıyla, membran geçişi sağlanır ve en sonunda alıcı transferine bağlanır.

Serüloplazmin gen mutasyonu sonucunda, insanlarda sistemik hemosiderozis (demir birikimi) ortaya çıkmaktadır (79).

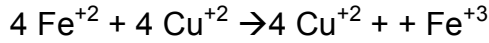
Askorbat oksidaz aktivitesi

Askorbik asit (vitamin C), 1 elektron oksidasyon basamağı ile dehidroaskorbik asite dönüşür, ve 2 askorbil radikali oluşturur (80). Askorbat serbest radikalleri, askorbik asitin süperoksid ve hidroksil radikali ile reaksiyonu yolu ile de oluşabilir, ancak, değişken metallerin varlığında, özellikle bakır, oksidasyon daha etkindir. Bu oksidasyon, serüloplazmine bağlı olan bakır atomları ve albümin ile birleşmiş olan demir atomlarından oluşmuş katalitik redoks sistemi aracılığıyla gerçekleşir.

Oksijen, suyun içinde 4 elektronun bir basamakta eklenmesi ile indirgenir. Bu reaksiyonda, ara ürün olarak, oksijen ürünleri kaçıışı gerçekleşebilir.



Planlanan bu redoks reaksiyonu, serüloplazmin bağlı Cu, albümin bağlı Fe ve askorbat indirgenmiş Fe (III) ve oksijen arasında oluşur. Serüloplazminin ferooksidaz aktivitesi, bu redoks sisteminde temel bir rol oynamaktadır.



Bakır Depolanması ve Transportu

Serüloplazmin, vücutta bakır depolanımının temel şeklidir, plazma bakırının yaklaşık % 95'ini bağlar, kalan kısım ise albümine bağlanmaktadır.

Serüloplazminin bakır transport ve depolanmasına dair rolü olduğunun delilleri, intravenöz olarak işaretlenmiş bakırın verilmesini içeren çalışmalardan ve 2 herediter bakır transport bozukluğundan; Wilson ve Menkes sendromlarından elde edilmiştir. Daha sonraki pek çok çalışmada, pek çok hücre üzerinde serüloplazmin reseptörlerinin varlığı ortaya konmuştur (81). Tüm bu sonuçlar, bu proteinin doku sistemleri için bakır sağladığını desteklemektedir.

Anormal serüloplazmin metabolizmasına sahip olan hastalarda ve aserüloplazminemia tablolarında, bakır metabolizmasının normal olduğunun ortaya konulması, serüloplazminin bakır için değil, demir metabolizması açısından esansiyel role sahip olduğunu ortaya koymuştur (82,83).

Organik substratların yıkımı

Serüloplazmin varlığında, geniş bir organik substrat grubu, aminofenoller, p-fenilenediaminler ve katekoller, daha önce askorbatta bahsedildiği üzere okside olurlar (84). P-fenileneaminlerin

oksidasyonu, serüloplazminin enzimatik aktivitesini ortaya koymak adına klasik bir örnektir (85). Bu reaksiyon oldukça önemlidir, çünkü, aminlerin oksidasyonu nitrozaminlerin ve diğer tehlikeli reaktif metabolitlerin oluşumuna neden olur, ve kan plazmasına karışır. Amin oksidazlar, fazla nörotransmitterlerin ve adrenalin gibi hormonların atılımına yardımcı olur.

Antioksidan Aktivite

Alfa tocopherol ve askorbik asit gibi pek çok biyolojik madde, hem antioksidan hem de prooksidan aktiviteye sahiptir. Serüloplazmin de bu gruba dahildir.

Kromatografik çalışmalar, serüloplazminin primer bir antioksidan olduğunu ve serbest radikallere karşı bir bariyer görevi gördüğünü ortaya koymuştur. Bakırla ilgili fonksiyonları yanında, serüloplazmin, ferooksidaz aktivitesiyle, Fenton reaksiyonunu inhibe ederek, antioksidan işlevini görmektedir (86). Ayrıştırılmış insan serüloplazminin, lipidlerin artıklarını, poliansatüre yağ asitlerinin ve fosfolipidlerin oksidasyonunu inhibe ettiği ortaya konmuştur. Ayrıca, DNA hasarını da engellediği bilinmektedir (87,88).

Prooksidan Aktivite

Serüloplazminin ferooksidaz aktivitesinin, iyi tanımlanmış deneysel şartlarda, makromoleküller özellikle düşük dansiteli lipoproteinler üzerinde oksidatif hasara neden olabileceği ortaya konmuştur. Serüloplazminin fazla miktar dializinin prooksidan aktivitesini değiştirmedeği ortaya konmuştur bu da prooksidan bakırın sıkıca bağlandığını göstermektedir. Ancak, şelasyon ligand olan Chelex-100'ün solid fazının tedavisi ile, serüloplazminin prooksidan aktivitesi tamamen inhibe edilmektedir (89). En dipte yerleşmiş bir parça olan, His 426, direkt oksijen ile reokside olması nedeniyle, ROS oluşumuna neden olup, prooksidan aktiviteden sorumludur.

Nitrik Oksid Oksidasyonu

Nitrik oksidin nitrosothiol ürünleri, nitrik oksid transporterları olarak fonksiyon görüp, hücre içi ve hücreler arası sinyal transdüksiyonundan sorumludur (90). NO, serüloplazminin substratları içinde, direkt mavi bakır bölgelerine bağlanabilme özelliğine sahip olması nedeniyle tektir (91). Tip 1 bakıra bağlanan hücrelerden sekrete edilen ve nitrosonium'a (NO⁺) okside olan nitrik oksid, daha sonra tiollerle reaksiyona girer.

Akut faz Proteini

Serüloplazmin, akut faz proteini olma özelliği sayesinde, doğal organizma defansının temel faktörlerindedir.

Serüloplazmin kritik hastalığı olan vakaların (septik olaylar, kardiovasküler ve onkolojik hastalıklar), ve acil durumların (yanıklar, radyasyon ve şiddetli kazalar) tedavisinde kullanılabilecek uygun bir tedavidir. Serüloplazmin intoksikasyonu azaltmakta, kalp fonksiyonlarının devamını sağlamakta, hemotopoetik ve immün sistemi kuvvetlendirmektedir. Özellikle, preoperatif dönemde zayıf ve anemik hastalarda, erken postoperatif dönemde ve masif kan kaybı olan ve proinflatuar komplikasyonlu süreçlerde endikedir. Böylelikle, doku hipoksisi azaltılıp, intrasellüler oksido-redüksiyon süreçler düzelir, solunum ve dolaşım fonksiyonları regüle olur (92).

Serüloplazminin belirgin etkisi, akut ve kronik osteomyelit, romatizma, infektif endokardit ve iskemik kalp hastalığı olan hastaların tedavisinde de gözlenmiştir (92).

Serüloplazmin ancak özel klinik koşullar eşliğinde i.v. olarak uygulanabilmektedir. Şu andaki medikal kullanımını oldukça kısıtlı olsa da, her geçen gün lehine yayınlanan klinik veriler, gelecekte çok daha geniş bir kullanım alanına sahip olacağını işaret etmektedir.

BAKIR VE FONKSİYONLARI, SERULOPLAZMİNİN BAKIR METABOLİZMASINDAKİ YERİ

Bakır insanlar ve hayvanlar için esansiyel bir elementtir. Vücutta, Cu+1 (cuprous) ve Cu+2 (cupric) formu olup, büyük çoğunluğu Cu+2 formdadır. Bakır, kolayca elektron alma ve verme yeteneğine sahip olup, böylelikle oksido-redüksiyon reaksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Hipokrat'ın, 400 B.C. de bakırı hastalıkların tedavisinde kullandığı bilinmekle beraber, halen günümüzde araştırmacılar, her geçen gün bakırın fonksiyonlarına yönelik yeni bilgiler edinmektedir.

FONKSİYONLAR

Bakır, pek çok esansiyel enzimin yapısında bulunan bir elementtir. Bakıra bağlı fonksiyonlar şunlardır:

Enerji üretimi: Bakır bağımlı bir enzim olan sitokrom c oksidaz, enerji üretiminde kritik bir öneme sahiptir. Moleküler oksijeni, suya redüksiyonunu katalize ederken, sitokrom c oksidaz, ATP üretimini sağlamak amacıyla elektriksel bir gradient oluşturur.

Bağ dokusu oluşumu: Lizil oksidaz, bakır bağımlı bir enzim olup, kollajen ve elastinde çapraz bağların oluşumunda görevlidir. Böylelikle, sağlam ve fleksible, bağ dokusu oluşur. Ayrıca lizil oksidaz, kan damarları ve kemik formasyonunda rol oynamaktadır.

Demir metabolizması: İki bakır içeren enzim, seruloplazmin (ferrooksidaz I) ve ferrooksidaz II, ferröz demiri (Fe+2)'i ferik demire (Fe+3)'e okside etme kapasitesine sahiptir. Demir bu formu ile, transferrin yardımıyla, kırmızı kan hücre oluşum bölgesine transport olabilir.

Santral sinir sistemi: Bakır içeren enzimlerin, beynin ve sinir sisteminin normal fonksiyonlarını idame ettirmesi adına üstlendikleri çok önemli fonksiyonları vardır.

Nörotransmitter sentezi: Dopamin-beta- oksidaz, dopamininin diğerk bir nörotransmitter olan, norepinefrine dönüşümünü katalize eder.

a) Nörotransmitterlerin metabolizması: Monoamin oksidaz (MAO), norepinefrin, epinefrin ve dopaminin metabolizmasında rol oynar. MAO , ayrıca başka bir nörotransmitter olan serotoninin yıkımında görevlidir, buda MAO inhibitörlerinin antidepresan özelliklerinin temelini oluşturmaktadır.

b) Myelin oluşumu ve devamlılığı: Miyelin kılıfı fosfolipidlerden oluşmuş olup, bunların sentezide sitokrom c oksidaz aktivitesine bağımlıdır.

c) Melanin oluşumu: Trozinaz, bakır içeren bir enzim olup, melanin pigmentinin oluşumunda etkilidir. Melanin, melanositler tarafından oluşturulur, ve saç, deri ve gözlerin pigmentasyonunda rol oynar.

Antioksidan fonksiyonlar:

Süperoksid dismutaz, süperoksid radikallerin (serbest radikal ve ROS), hidrojen perokside dönüşümünü katalize eden antioksidandır. Oluşan hidrojen peroksid, daha sonra diğerk antioksidan enzimler yardımıyla suya indirgenmektedir. SOD'ın 2 formu bakır içermektedir.

1. Bakır/çinko SOD, kırmızı kan hücreleri de dahil olmak üzere pek çok hücrede bulunur.
2. Ekstrasellüler SOD, akciğerlerde yüksek seviyede bulunurken, kan plazmasında düşük seviyelerdedir.

Seruloplazmin, 2 yolla antioksidan faaliyet gösterir. Serbest bakır ve demir iyonları, serbest radikal hasarın güçlü katalistleridir. Bakırı bağlayarak, seruloplazmin, serbest bakır iyonlarının oksidatif hasara yol açmasını önler. Serüloplazminin ferooksidaz aktivitesi (ferröz demirin oksidasyonu), demirin transport proteini olan transferine yüklenmesine yardımcı olur, ve böylelikle serbest ferröz demirin zararlı serbest radikal oluşum reaksiyonları önlenmiş olunur.

Gen ekspresyonu regülasyonu:

Bakır içeren transkripsiyon faktörleri, spesifik genlerin transkripsiyonunu regüle eder. Böylelikle, sellüler bakır seviyesi, bu genlerin transkripsiyonunu arttırarak veya inhibe ederek, proteinlerin sentezini regüle eder. Bakır içeren transkripsiyon faktörleri ile regüle edilen genler, bakır/çinko süperoksid dismutaz , katalaz ve bakırın hücrel depolanımı için gerekli olan proteinlerdir.

SERÜLOPLAZMİNİN VE NÖRODEJENERASYON

1987’ de Miyajima, Parkinson hastalığına benzer, sirküle olan serum serüloplazminin hemen hemen tamamen yokluğu ile karakterize, otozomal resesif, erişkin başlangıçlı nörodejeneratif bir hastalık tanımladı. Diabetes mellitus, retinal dejenerasyon ve bleforaspazm ile beraber nörodejenerasyon triadını ‘familial aposerüloplazmin eksikliği’ olarak adlandırdı. Nöropatolojik incelemede, bazal ganglia ve substansia nigra’da seçilmiş nöronlarda demir birikimi olup, reaktif gliosis olmaksızın spongioform dejenerasyon gözlenmiştir. Serüloplazmin geninde mutasyon, pankreas, retina ve beyinde fazla demir birikimine neden olmaktadır. Artmış serum ferritin düzeyi, sistemik demir akümüasyonu sendromuna işaret ederken, etkilenen hastalarda, düşük transferin saturasyonu ve hafif düzeyde anemi gözlenmiştir. Bu yeni hastalık, ‘aserüloplazminemi’ serüloplazminin, demir homeostazisi için esansiyel bir ferooksidaz olduğunu ortaya koymuştur. Bu multi bakır oksidazı, yeterli demir atılımını sağlarken, yetersizliğinde demir birikimi sonucunda nöronal hasar oluşturmaktadır (93). Fazla demir birikimi, biyolojik oksidasyonun, potent bir katalizörüdür. Artmış demir konsantrasyonu, beyinde artmış lipid peroksidasyonuna neden olur. PET çalışmalarında, beyin glukoz ve oksijen hipometabolizması izlenmiştir. Bazal ganglianın mitokondriyal solunum zincirinde, özellikle kompleks I ve IV’ de, enzim aktiviteleri % 43-50 oranında azalmaktadır. Ayrıca serebral ve serebellar kortekste % 62-65 oranında düşüş gözlenmiştir (94) Tüm bu veriler, serüloplazmin yetersizliğinin, artmış lipid peroksidasyonu, azalmış mitokondriyal enerji üretimi ve demir aracılı serbest radikallerin artması nedeniyle nöronal hücre hasarına yol açtığını ispatlamaktadır.

Serüloplazmin gen hasarı yaratılarak yapılan bir çalışmada (95), Cp-/- farenin sinir sisteminde, serebellum ve beyin sapında demir birikimi gözlenmiştir. Bazı S.S.S. bölgelerinde, lipid peroksidasyonu izlenmiştir. Cp-/- fare, beyin sapı dopaminerjik nöronların kaybına bağlı motor koordinasyon defisiti göstermiştir. Bu durum, serüloplazminin S.S.S.’ni demir aracılı radikal hasardan koruduğunun ispatıdır ve Parkinson, Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda antioksidan etkisinin önemini vurgulamaktadır.

MANYETİK REZONANS SPEKTROSKOPİ

Manyetik Rezonans Spektroskopi (MRS), klinik radyoloji grubundan çok ilgi görmemiştir. MRS çalışmalarının büyük çoğunluğu özellikle temel bilimler ağırlıklı küçük sayılı gruplar tarafınca uygulanmaktadır. Bunun sebebi MRS' nin görüntü yerine grafikler ile bilgi vermesidir.

Manyetik rezonans spektrumları 10-15 dk. gibi kısa bir sürede elde edilebilir. Bu nedenle çok özel bir zaman gerektirmeden MR görüntüleme çalışmalarına eklenebilir. Daha da ötesi MRS dokunun özelliklerinin tanınması açısından tek başına MRG çalışmalarından daha fazla bilgi sağlar.

Tarihçesi :

1946 yılında Puncell ve arkadaşları, MRG temel prensiplerini ortaya koydular. Beş yıl sonra Proctor ve Yu 'Bir çekirdeğin rezonans frekansı onun kimyasal çevresine bağlıdır ve bu kimyasal çevre bu çekirdeğin –Larmor rezonans frekansı'nda küçük ama farkına varılabilir bir değişiklik oluşturur' görüşünü ortaya atarak, bu çekirdek davranışını 'kimyasal kayma' olarak adlandırdılar.

MRS'de insan vücudundaki bazı atomlar görüntüleme amaçlı kullanılabilir (31P, 1H-31P, 13 C, 1H-13 C, 15N, 23 Na, 19 florin). Diğer manyetik nükleuslarla kıyaslandığında, yüksek manyetik sensitivite nedeniyle MRS'de protonlar (H-1) geleneksel olarak kullanılmaktadır (96).

Proton MRS Yöntemleri :

1. Single voxel proton spektroskopi
2. 2 DCSI (2D kimyasal kayma yöntemi)
3. 3 D proton spektroskopi

Bu çalışmada ‘single voxel proton spektroskopisi’ yöntemi kullanılmıştır.

Single Voxel Proton Spektroskopisi :

‘Voxel’ terimi, örneklenen volüm elemanını ifade eder. Bu volüm elemanı bir yükseklik, uzunluk ve derinliğe sahiptir. Klinik spektroskopide voxel’in boyutu 2-8 cm³ arasında değişir. Fakat iyi bir ekipmanla 1 cm³’e kadar küçük de olabilir.

Uygulama olarak, lokalize edici MR görüntüsünde çalışılacak lezyon ya da bölge belirlenerek, en küçüğü 1 cm³ olmak üzere boyutları ayarlanabilen kutucuk, lezyon alanına yerleştirilerek taramaya başlanır. Her sekans ortalama 5-10 dk. süresince olup, değişik amaçlar için kullanılan çeşitleri vardır.

-PRESS (Point Resolved Spectroscopy)

-STEAM (Stimulated-Echo Acquisition Mode) en yaygın kullanılan sekanslardır. Bu sekanslarda taranacak bölgenin 3 boyutlu lokalizasyonu ve kimyasal maddelerden gelen frekans bilgilerinin elde edilmesi sağlanır. Elde edilen frekans bilgileri referans kabul edilen frekansdan sapma derecelerine göre PPM (parts per million) cinsinden spektrayı oluşturur (96).

Sağlıklı insan beyinde, uzun eko sürelerinde (TE) (genellikle 136 ya da 272 milisaniye) su ile baskılanmış, lokalize proton MR spektrumları, 4 major rezonans ortaya koymaktadır.

3.2ppm’de bir rezonans, özellikle kolin içeren fosfolipidler olmak üzere, temelde tetrametilaminlerden kaynaklanır; 3.0 ppm’de bir rezonans, esas olarak tek başına ya da fosfokreatin biçimindeki kreatinden kaynaklanır; 2.0 ppm’de bir rezonans, özellikle N-asetil aspartat olmak üzere N-asetil gruplarından kaynaklanırken 1.3 ppm’de bir rezonans, laktatın metil rezonansından kaynaklanır. Daha kısa TE’ ler, lipidler, myoinositol, glutamat ve γ -aminobütirik asit gibi kısa T₂ relaksasyon süreli bileşikler daha iyi saptayabilmektedir (96,97).

Teknik :

Nükleuslar uniform bir manyetik alana maruz kaldıktan sonra protonları z-axis'inden x-axis'ine döndüren 90 derecelik bir radyo frekans pulsesi oluşur. Bu pulse ters döndürüldüğünde protonlar, tekrar z-axis'indeki orjinal pozisyonlarına dönerler. Z-axis'indeki orjinal pozisyonlarına dönmeleri için geçen zaman, relaksasyon zamanı olarak değerlendirilir.

'Alıcı coil'ler bu süre boyunca zaman içindeki bir çok noktadaki varyasyonları tespit ederler. Bu voltaj varyasyonu 'free induction decay = indüksiyonun kendi kendine azalımı' olarak isimlendirilir. Ekspansiyel bir azalma fonksiyonu olarak pratiğe dökülebilir. Bu bilginin 'fourier transformasyonu' farklı 'Larmor' frekanslarındaki piklerin oluşturduğu çizgilerle frekans alanı hakkında bilgi verir. Her bir piki karakterize eden parametreler ise; rezonans frekansı, yüksekliği ve yarı yükseklikteki genişliğidir. Çizgi üzerindeki her bir pikin rezonans frekans pozisyonu o nükleusun kimyasal çevresine bağlıdır. Yükseklik (maksimum pik) ya da pik altındaki alan hesaplanabilir. Bu da protonların konsantrasyonları ile ilgili rölatif ölçümleri verir. Yarı yükseklikteki pik genişliği, relaksasyon zamanı hakkında bilgi verir (96).

Metabolitler, Lokalizasyonları ve Özellikleri :

MRG'den elde edilen anatomik anormallikler MRS ile biyokimyasal bozuklukları tespit etmek için gerekli değildir. Basitleştirilmiş bir lokalizasyon metoduyla MRS ile tek bir nöro-kimyasal değerlendirme yapılabilir. Bu metot, şu anda 'single-voxel MRS' olarak bilinmekte ve sıklıkla nörolojik hastalıkların altında yatan biyokimyasal bozuklukları göstermekte kullanılmaktadır (98).

MRG, hastalığa erken ve doğru tanı koyduğunda bile MRS, bunu daha erken yaparak, nörolojide çok ihtiyaç duyulan terapötik fırsat penceresini büyütebilir. Ayrıca girişim ve tedavi sonucu değişen metabolik cevapları göstermek için gerekli ölçümlere imkan verir.

MRS normal bebek beynindeki gelişimsel değişiklikleri doğru bir şekilde yansıtır. Reversibl biyokimyasal değişiklikler sistemik fizyolojik olaylara eşlik eder. İlave olarak, doğumsal

metabolik patolojiler ve herediter hastalıklar, majör nörolojik hastalıkların bazıları da, nöro-MRS paternleriyle tespit edilebilir. Neonatal hipoksi, serebral palsy, AIDS, demanslar, inme, epilepsiler, nöroinfeksiyonlar ve ensefalopatinin biyokimyasal komponent içerdikleri görülmektedir. Sıklıkla bu, sadece MRS ile tanınabilir (98,99).

Proton MRS ile PRESS ve STEAM sekansında N-asetilaspartat, kreatin, kolin ve lipid-laktat, myoinositol, glutamin-glutamat, glisin, lipid, taurin, scylo-inositol ve glukoz gibi biyokimyasal belirteçler tespit edilebilir.

İncelenen bölgede normal dokuda olan ya da olmayan bu metabolitlerin oluşturduğu spektraya göre, patolojik proçesin metabolik durumu yansıtılmaktadır. MRS, non-invaziv olarak metabolik durum hakkında bilgi veren tek radyolojik tanı yöntemidir.

MRG'nin gelişimi ile, nörolojiye biyokimyasal yaklaşımların yönü; destrüktif elektrofizyoloji, membran potansiyeli ve protein yapısından intakt insan beynini incelemede kullanılabilecek non-invaziv görüntüleme ve metabolik haritalama metodlarına dönmüştür.

Proton MR Spektroskopi kullanılarak normal insan beyin dokusunun metabolik haritası çıkarılmıştır. Grafik olarak dökümente edilen bu metabolik harita, beynin bütün metabolik durumu hakkında proton MRS sayesinde bilgi verir.

H-1 MRS kullanılarak normal beyin dokusunda tespit edilen metabolitler ;

- MI** : Myoinositol
- Cho** : Kolin
- Cr** : Kreatin
- NAA** : N-asetil aspartat
- Glx** : Glutamin ve Glutamat

Normal beyin dokusunda elde edilen bu metabolitler dışında, değişik patolojilerde, proton MRS kullanılarak tespit edilen diğer metabolitler ise laktat ve lipid'dir.

Kolin :

Cho'in rezonans intensitesindeki değişiklikler esas olarak, kolin, fosfokolin ve gliserofosfokolini içeren çözünebilir kolin bileşikliklerinin kararlı durum düzeylerindeki artışlardan kaynaklanmaktadır. Kolin düzeyleri, demiyelinizan lezyonlarda artmaktadır çünkü bu membran fosfolipidleri, aktif myelin yıkımı sırasında açığa çıkar. Kolin konsantrasyonu, beyaz maddede gri maddeye göre hafifçe yüksektir. Artmış kolin, membran sentezini ve hücre proliferasyonunu gösterir. Kolin konsantrasyonu, beynin neoplastik süreçlerinde büyük miktarlarda artmaktadır (97,98).

Kreatin :

Beyin içindeki total Cr konsantrasyonu, görece sabit ve değişime karşı dirençli olma eğilimindedir. Bu nedenle Cr sık olarak, diğer metabolitlerin rezonans intensitelerinin normalleştirildiği bir iç standart olarak kullanılır. Ancak lokal Cr sinyallerinin malign tümörler gibi, Cr ölçümlerinde fokal azalmalara yol açabilecek bazı yıkıcı patolojik süreçler için bir iç standart olarak kullanılmasına dikkat edilmelidir. Beyin tümörlerinde özellikle metastazlarda Cr pikinde, azalma meydana gelmektedir (97,98,99).

N-asetil aspartat :

NAA'den kaynaklanan rezonansın, beyindeki patolojik süreçlerin en önemli proton MRS sinyali olduğu tartışmalıdır. Proton spektrumlarında, gelişmesiyle ilgili normal değişmeler tanımlanmıştır.

NAA, gebeliğin 16. haftası gibi erken bir dönemde fetusların serebral korteksinde ve beyaz maddesinde saptanabilmektedir. NAA/Cr düzeyleri, yaşamın ilk birkaç yılında hızla yükselir. Ancak erişkinlerdeki değerlere 16 yaşına kadar erişilememektedir. NAA, esas olarak olgunlaşmış nöronlarda ve aksonlar gibi nöron süreçlerinde bulunur ve bu nedenle olgun insan beyinde nöronal belirteç olarak kullanılmıştır. Dejeneratif bozukluklar, inme ve gliyal tümörler gibi nöron kaybının bulunduğu iyi bilinen patolojik süreçlerde görece NAA

konsantrasyonlarında azalmalar kaydedilmiştir. Düşük NAA sinyalleri, nöronların ve aksonların kaybına ya da hasarına ilişkin daha az bilgi ve kanıtın elde edilebildiği, beyinle ilgili diğer patolojik süreçlerde ve hatta postmortem incelemede bile gözlenmiştir. Nöron kaybı ya da hasarını in vivo koşullarda nicel olarak belirleme olanağı, MRS'nin serebral bozukluklardaki en önemli potansiyel uygulama alanlarından biridir (99,100).

Myoinositol :

Myoinositol, hormona duyarlı nöroreseptörde rol alan bir metabolittir. 'Xenobiyotikler'i konjugasyonla detoksifiye eden glukuronik asidin olası bir prekürsörüdür. Ayrıca MI 1, 4, 5 trifosfat, intrasellüler Ca^{++} mobilizasyonu yaparak, hormonların ikincil mesajcısı olarak görev yapar. Myoinositol, gliyal fonksiyon belirteci olarak kabul edilir.

MI, hücre volümü regülasyonunda önemli bir osmotik ajandır. Myoinositol konsantrasyonu, hepatik ensefalopatide azalma gösterirken, Alzheimer hastalığında yükselir (101,102).

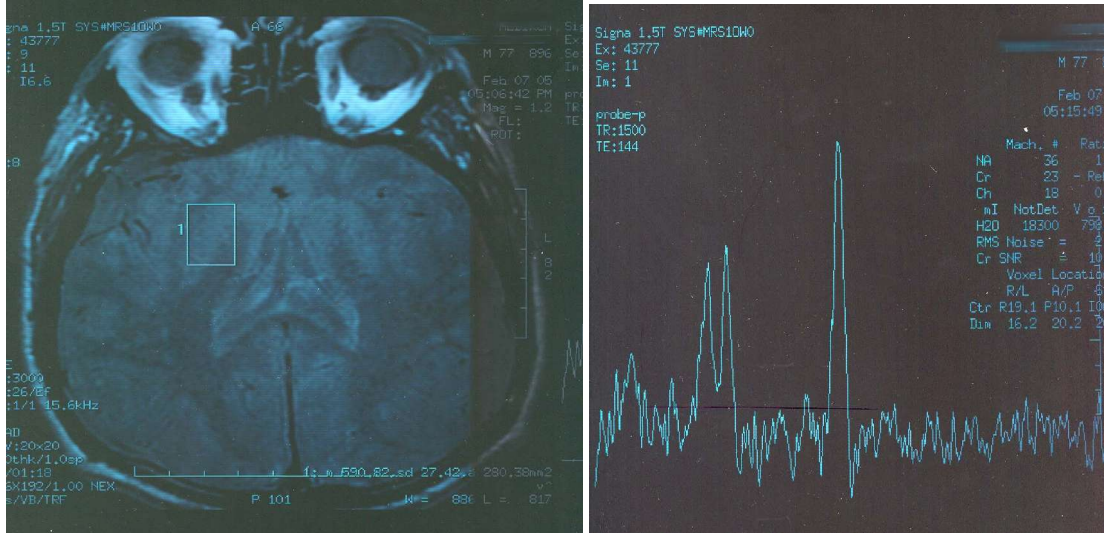
Myoinositol, 3,56 ppm'de pikini oluşturur. Pikini oluşturanlar, MI ve inositol 1 fosfattır. Bu pike MI'ün katkısı 5 milimol, inositol 1 fosfatın katkısı ise 0.5 milimoldür. Bununla birlikte 0,5-1 milimollük glisin bulunmaktadır. Bu pikin % 25'inde alt metabolitler oluşturur (96).

Laktat :

Laktat, glikolizin son ürünüdür ve oksidatif metabolizmanın enerji gereksinimini karşılayamadığı durumlarda birikir. Bazı beyin neoplazmları, glikolizin görece hızı yüksek olduğundan, laktat düzeylerinin de yükselmesine neden olabilmektedir. Laktat ayrıca, nekrotik dokulardaki ekstrasellüler ortamda ve sıvı dolu kistlerde de birikmektedir. Laktat düzeylerinin yükselebildiği üçüncü bir durum, sellüler infiltratlarla ilişkili olabilen enflamatuvar reaksiyonlardır. Örneğin, iskemik infarkt oluşumunun ardından laktat düzeylerinin uzun süre yüksek kalmasının, infiltre eden makrofajların metabolizmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (96,103,104).

PARKİNSON HASTALIĞINDA PROTON MR SPEKTROSKOPİ

Parkinson hastalığında, nöropatolojik olarak Lewy cisimciklerinin ve substansia nigra pigmente nöronların dejenerasyonu iyi bilinse de, bu değişikliklerin klinik gidiş ile bağlantısı net olarak ortaya konamamıştır. Proton MR spektroskopisi, bu noktada devreye girip, belli beyin metabolitlerinin konsantrasyonlarının ölçümüne olanak sağlamaktadır (105,106,107). Uzun eko zamanında, belirlenen temel metabolit sinyali N-asetilaspartat (NAA) bileşikleridir. Bunu, kolin içeren bileşikler (CHO) ve kreatin ve fosfokreatin (CRE) takip eder. NAA, nöron spesifik molekül kabul edilmektedir çünkü, immünohistokimyasal çalışmalar, anti-NAA antikörlerin, nöron- spesifik proteinlere karşı gelişmiş antikörlerle beraber yer aldığını göstermiştir (108), ayrıca matür glial hücre kültürlerinde NAA yoktur (109,110). CHO tepe değeri, gliserofosfokolin ve fosfokolinden elde edilen total beyin kolin değerini gösterir (111). CRE tepe noktası, enerji metabolizmasında kullanılan, total fosfokreatin ve kreatin değerlerini gösterir (112). Laktat sinyali glikolitik hızın, oksidatif metabolizma kapasitesini aşma durumunda yükselir (113).



MATERYAL VE METOD

Bu çalışmadaki vakalar, 01.01.2005 ile 01.05.05 tarihleri arasında S.B. Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hareket Bozukluğu ve Demans polikliniğine başvuran hastalar arasından seçildi.

Kontrol grubu ise farklı şikayetlerle polikliniğimize başvuran ve çalışmaya katılmak için uygun kriterlere sahip bireylere, çalışma hakkında bilgi verilerek oluşturuldu.

VAKA DETAYLARI

İdiopatik Parkinson Hasta (İPH) Grubu:

Vakaların tanıları, I. Ekstrapiramidal Sistem Uluslararası Komitesi tarafından belirlenen, Parkinson hastalığı tanı kriterleri baz alınarak konuldu:

1. 4 tipik semptom ve bulgudan en az 2'sine sahip olma (statik tremor, harekette yavaşlama, rigidite ve pozisyonel bozukluklar)
 2. İdiopatik Parkinson hastalığı tanısından uzaklaştıracak, beraber eşlik eden semptom ve bulguların olmayışı (Piramidal bulgular, apraksi, serebellar bulgular, bakış palsi, şiddetli disotonomi, hafif ekstrapiramidal bulgularla beraber belirgin demans)
- (National Extrapiramidal Session, 1986)**

Beyin MR'larında patolojik değişiklikler saptanan hastalar çalışma dışı tutuldu. (örn: Multi sistem atrofi, lakuner sendromlar)

Çalışmaya katılan toplam İPH tanısı konulan hasta sayısı: 23

Kadın: 19

Erkek: 4

Ortalama yaş: 67±8.8

Çalışma dışı tutulma kriterleri: Ciddi bir hastalığa sahip olma (örn. Karaciğer veya böbrek yetmezliği, GGT değerinin normal intervalinin 2 katından fazla yükselmesi, karaciğer

fonksiyonlarını etkileyebilecek ilaç kullanımı). Aynı dışlama kriterleri sağlıklı kontrol grubu içinde uygulandı.

Tüm vakaların kan örnekleri sabah aç durumda alındı. Seruloplazmin değerleri İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi biokimya laboratuvarında çalışıldı.

Kontrol Grubu:

Atherosklerotik risk faktörü olmayan sağlıklı bireyler çalışmaya dahil edildi.

Toplam sayı: 12

Kadın: 7

Erkek: 5

Ortalama yaş: 63,67±9,32

Bütün hastalarda anamnez ve özgeçmiş değerlendirildi. Rutin fizik ve nörolojik muayene değerlendirildi. Laboratuvar tetkiki olarak tüm hastalara tam kan sayımı, sedimentasyon, rutin biokimya (üre, kreatinin, karaciğer fonksiyon testleri, kan lipidleri, serum elektrolitleri) testleri yapıldı. Hipertansiyon, diabetes mellitus, geçirilmiş serebrovasküler olay, kardiovasküler olay, hiperlipidemi, sigara içimi araştırıldı. HT tanısı için en az 3 ölçümde 160/90 mmHg üzeri değerler kabul edildi. Diabet tanısı için açlık kan şekerinin 120 mg/dl üzerinde olması kabul edildi. Hiperlipidemi için kan kolesterol değerinin 200 mg/dl üzerinde oluşu kabul edildi.

Tüm vakalara kranial MR ve H-1 MRS tetkikleri yapıldı. Aynı laboratuvar tarafından serum seruloplazmin tetkiki gerçekleştirildi.

Parkinson hasta grubunda UPDRS (Unified Parkinson's Disease Rating Scale) ve Hoehn&yahr (H&Y) değerlendirme skalaları ile hastalık derecelendirildi. Başlangıç bulgu ve semptomları ve mevcut klinik bulguları ve taraf bulguları belirlendi. Kullandıkları ilaçlar toplam kullanım süreci ve dozları not edildi.

MRS ve kranial MR sonuçları, hastaların klinik bulgularından habersiz radyolog eşliğinde değerlendirildi.

H-1 (PROTON) MR SPEKTROSKOPİ TEKNİĞİ

Proton MRS'ler, özel bir merkezde 'General Elektrik Signa HiSpeed 1.5 Tesla cihazı' ile yapıldı.

PRESS (point resolved spectroscopy) sekansı uygulanarak şu parametreler kullanılmıştır : TE 144 ms, 64 acquisition, 2x2x2 'voxel size', TR 1500 ms. Aksiyal veya koronal T-2 sekansları kullanılarak 'single voxel spektroskopi' yapılmıştır.

Çalışmada 'single voxel proton spektroskopi General Electric'in özel soft-ware probu' kullanılmıştır. Otomatik olarak 'shimming' (2-6 Hz) ve % 99 su baskılanması yapılarak sekanslar elde edilmiştir. Adı geçen 'soft-ware' kullanılarak otomatik 'post-processing'den sonra elde edilen spektra kalite açısından denetlenerek yine otomatik olarak kuantifiye edilmiştir. Kuantifikasyon aslında semikuantitatif yöntem olan pik eğrilerinin altındaki alanın logaritmik olarak hesaplanması şeklinde olup, NAA, Cho, Cr değerleri hesaplanmıştır.

Çalışmada Kullanılan Proton MR Spektroskopi Parametreleri :

MRS yöntemiyle bilateral putaminal bölgelerden TE 144 sekansı ile elde edilen NAA, Cho ve Cr değerleri bu çalışmada kullanılmıştır. Cr değeri birçok hastalıkta sabit kaldığından kontrol değeri olarak kullanılmıştır. Böylece değerler oranlanarak (NAA/Cho ve NAA/Cr) yeni parametreler elde edilmiştir. Çalışmamızda gruplar arasındaki karşılaştırmada bu oranlar kullanılmıştır.

İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER :

Bu çalışmada istatistiksel analizler GraphPad Prisma V.3 paket programı ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra ikili grupların karşılaştırmasında bağımsız t testi , grupların hasta, sağlam ve sağ sol

taraf ölçümlerinde eşlendirilmiş t testi, küçük sayıdaki ikili grupların karşılaştırmasında Mann-Whitney-U testi nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare testi kullanılmıştır. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bu çalışmaya Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hareket Bozukluğu polikliniğine başvuran 23 İdiopatik Parkinson hastalığı teşhisi konulmuş hasta alınmıştır.

Parkinson grubunda 4 (%17,4) Erkek, 19 (%82,6) Kadın toplam 23 hasta alınmış , yaş ortalaması $67\pm 8,8$ (Min:50- Max:81) bulunmuştur.

Kontrol grubunda 5 (%41,7) erkek, 7 (%58,3) kadın toplam 12 kişi alınmış, yaş ortalaması $63,67\pm 9,32$ (Min:52 Max:76) bulunmuştur.

Parkinson grubunun ortalama hastalık süresi $6,6\pm 5,33$ (Min:0 – Max:18) yıl, hastalık başlangıç yaşı $60,4\pm 10,77$ (Min:42-Max:80) olarak bulunmuştur.

Parkinson grubu ortalama UPDRS 33,43 (11-62); ortalama H&Y 1.87 (1-3) olarak değerlendirilmiştir.

	Parkinson Gr	Kontrol Grubu		
Yaş	67±8,8	63,67±9,32	t:1,04	P= 0,305
Cinsiyet Erkek	4 (%17,4)	5 (%41,7)		
Kadın	19 (%82,6)	7 (%58,3)	$\chi^2:2,43$	P=0,119

Tablo 1:

Parkinson ve kontrol grubunun yaş ortalamaları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (t:1,04 p=0,305).

Parkinson ve kontrol grubunun cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($\chi^2:2,43$ p=0,119).

**HASTA GRUPLARININ ÇALIŞMA PARAMETRELERİ AÇISINDAN
DÖKÜMÜ**

GRUP		N	Minimum	Maximum	Mean
Parkinson Gr	Yaş	23	50	81	67±8,8
	Hastalık Süresi	23	0	18	6,6±5,33
	Hastalık Başlangıç Yaşı	23	42	80	60,4±10,77
	L- DOPA Kullanım Yılı	23	0	12	4,39±3,8
	NAA/CHO (KL)	23			1,312±0,17
			1,01	1,71	7
	NAA/CHO (IL)	23			1,641±0,21
			1,24	1,93	8
	NAA/CR (KL)	23			1,454±0,17
			1,12	1,71	4
	NAA/CR (IL)	23	1,02	2,2	1,69±0,307
	Serulo Plazmin	23	14,9	30,0	22,35±3,66
Kontrol Grubu	Yaş	12	52	76	63,67±9,32
	NAA/CHO Sağ	12	1,16	2,24	1,62±0,283
	NAA/CHO Sol	12			1,693±0,42
			1,22	2,5	7
	NAA/CHO Sağ-Sol	24			1,657±0,35
			1,16	2,5	6
	NAA/CR Sağ	12			1,678±0,16
			1,4	1,87	4
	NAA/CR Sol	12			1,723±0,22
			1,37	2,2	6
	NAA/CR Sağ-Sol	24			1,701±0,19
			1,37	2,2	4
	Serulo Plazmin	12	22,0	30,1	25,83±2,26

Tablo 2:

KL (Kontralateral): Hastanın klinik bulgularının baskın olduğu tarafın karşı sındaki putaminal bölge MRS verileri

IL (İpsilateral): Klinik bulguların baskın olduğu taraftaki putaminal MRS verileri

GRUPLARIN PROTON-MRS ÖZELLİKLERİ

Grupların kendi aralarındaki istatistiksel analizler:

Tablo 3:

		(KL)	(IL)	t	p
Parkinson Gr	NAA/CHO	1,312±0,177	1,641±0,218	-8,24	0,0001
	NAA/CR	1,454±0,174	1,69±0,307	-4,79	0,0001
Kontrol Grubu		Sağ	Sol		
	NAA/CHO	1,62±0,283	1,693±0,427	-0,46	0,651
	NAA/CR	1,678±0,164	1,723±0,226	-0,76	0,461

Parkinson grubunun (KL) NAA/CHO ortalama değerleri (IL) ortalama NAA/CHO değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (t:-8,24 p=0,0001).

Parkinson grubunun (KL) NAA/CR ortalama değerleri (IL) taraftan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (t:-4,79 p=0,0001).

Kontrol grubunun sağ ve sol taraf NAA/CHO ortalama değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (t:-0,46 p=0,651).

Kontrol grubunun sağ ve sol taraf NAA/CR ortalama değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (t:-0,76 p=0,2461).

**PARKİNSON HASTA GRUBUNUN VE SAĞLIKLI KONTROL VAKALARININ
PROTON MRS SONUÇLARI AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI**

Tablo 4:

	Parkinson Gr	Kontrol Grubu	t	p
NAA/CHO (KL)	1,312±0,177	1,657±0,356	-4,17	0,0001
NAA/CHO (IL)	1,641±0,218	1,657±0,356	-0,18	0,858
NAA/CR (KL)	1,454±0,174	1,701±0,194	-4,57	0,0001
NAA/CR (IL)	1,69±0,307	1,701±0,194	-0,14	0,89
Serulo Plazmin	22,35±3,66	25,83±2,26	-3,00	0,005

Parkinson grubunun (KL) NAA/CHO ortalama değerleri kontrol grubu ortalama NAA/CHO değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (t:-4,17 p=0,0001).

Parkinson grubu (IL) NAA/CHO ortalamaları ile kontrol grubu ortalama NAA/CHO değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (t:-0,18 p=0,858).

Parkinson grubu (KL) NAA/CR ortalama değerleri; kontrol grubu ortalama NAA/CR değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (t:-4,57 p=0,0001).

Parkinson grubu (IL) NAA/CR ortalama değerleri ile kontrol grubu ortalama NAA/CR değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (t: -0,14 p=0,89).

SERULOPLAZMİN DÜZEYLERİ AÇISINDAN HER İKİ GRUBUN İSTATİSTİKSEL

ANALİZ SONUCU

Parkinson grubunun Serulo Plazmin ortalama değerleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (t: -3 p=0,005).

SERULOPLAZMİN DÜZEYİNİN PARKİNSON GRUBUNDA YAŞ VE HASTALIK SÜRESİ İLE ANALİZİ

		Serulo
		Plazmin
	r	0,108
Yaş	p	0,625
	r	-0,072
Hastalık Süresi	p	0,743

Tablo 5:

Seruloplazmin düzeyleri ile hasta yaşı ve hastalık süresi arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır.

Kontrol grubu içinde yaş ve seruloplazmin düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır.

**PARKİNSON HASTA GRUBUNUN PROTON MRS VERİLERİ VE
SERULOPLAZMİN DÜZEYLERİNİN KLİNİK PROGRESYON (UPDRS VE H&Y)
İLE KORELASYON ANALİZİ**

		UPDRS	H&Y
	r	-0,01	0,007
NAA/CHO (KL)	p	0,963	0,973
	r	0,127	0,149
NAA/CHO (IL)	p	0,565	0,496
	r	0,188	0,306
NAA/CR (KL)	p	0,389	0,156
	r	0,413	0,299
NAA/CR (IL)	p	0,053	0,166
	r	0,134	0,057
Serulo Plazmin	p	0,543	0,797

Tablo 6:

Parkinson grubunun UPDRS değerleri ile NAA/CHO (KL) ve (IL) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (r:-0,01 p=0,963, r:0,127 p=0,565).

Parkinson grubunun UPDRS değerleri ile NAA/CR (KL) ve (IL) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (r: 0,188 p=0,389, r: 0,413 p=0,053).

Parkinson grubunun UPDRS değerleri ile seruloplazmin değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (r: 0,134 p=0,543).

Parkinson grubunun H&Y değerleri ile NAA/CHO (KL) ve (IL) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (r:0,007 p=0,973, r:-0,149 p=0,496).

Parkinson grubunun H&Y değerleri ile NAA/CR (KL) ve (IL) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (r: 0,306 p=0,156, r: 0,299 p=0,166).

Parkinson grubunun H&Y değerleri ile seruloplazmin değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (r: 0,057 p=0,797).

PARKİNSON HASTA GRUBUNUN HASTALIK SÜRESİ, HASTALIK BAŞLANGIÇ YAŞI, L-DOPA KULLANIM YILI VERİLERİNİN PROTON MRS VE S ERULOPLAZMİN DÜZEYLERİ İLE KORELASYON ANALİZİ

		Hastalık Süresi	Hastalık Başlangıç Yaşı	L- DOPA Kullanım Yılı
NAA/CHO (KL)	r	-0,12	-0,098	-0,053
	p	0,584	0,655	0,809
NAA/CHO (IL)	r	-0,133	0,097	-0,086
	p	0,546	0,66	0,697
NAA/CR (KL)	r	0,457	-0,516	0,56
	p	0,028	0,012	0,006
NAA/CR (IL)	r	0,026	-0,173	0,219
	p	0,905	0,43	0,315
Serulo Plazmin	r	-0,072	0,124	-0,165
	p	0,743	0,573	0,452

Tablo 7:

Parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır.

PARKİNSON HASTA GRUBUNUN PROTON MRS DEğERLERİNİN SERULOPLAMİN DÜZEYİ İLE KORELASYON ANALİZİ

		Serulo
		Plazmin
	r	0,424
NAA/CHO (KL)	p	0,011
	r	0,178
NAA/CHO (IL)	p	0,307
	r	0,103
NAA/CR (KL)	p	0,555
	r	-0,018
NAA/CR (IL)	p	0,917

Tablo 8:

Kontralateral putaminal bölge NAA/ Cho değeri ile seruloplazmin düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır. Seruloplazmin düşüklüğü ile beraber kontralateral NAA/Cho değerlerinde orantısal olarak azalma olmaktadır.

PARKİNSON HASTALARININ KLİNİK OLARAK BASKIN OLAN TABLOLARI İLE PROTON MRS VERİLERİ VE SERULOPLAZMİN DÜZEYLERİNİN ANALİZİ

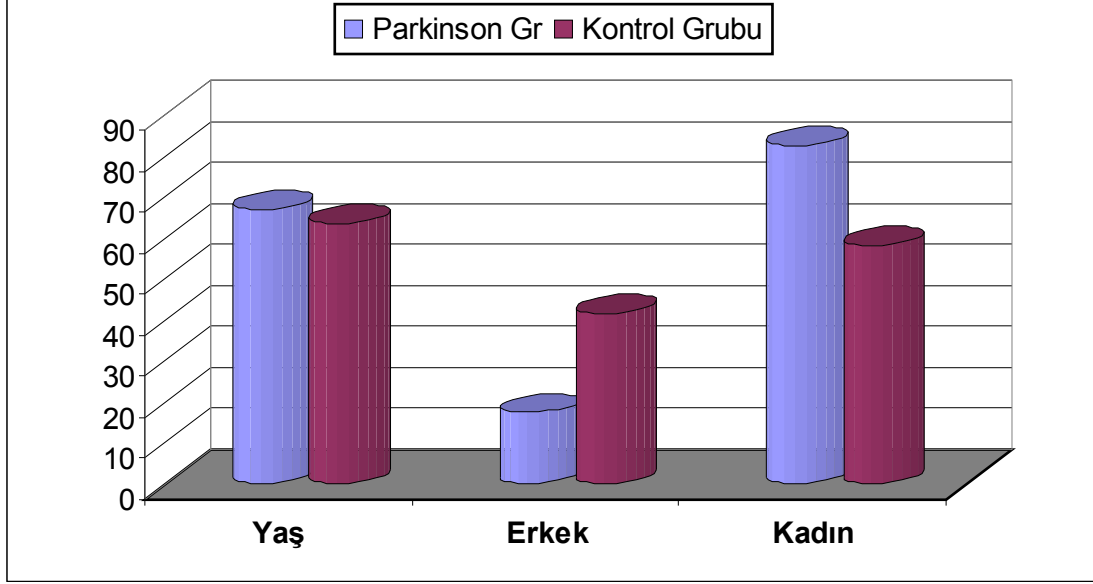
	BK	TR	MW	p
NAA/CHO (KL)	1,3±0,099	1,316±0,199	48,5	0,861
NAA/CHO (IL)	1,563±0,138	1,669±0,237	32	0,183
NAA/CR (KL)	1,403±0,225	1,472±0,156	40,5	0,461
NAA/CR (IL)	1,745±0,313	1,671±0,313	45,5	0,7
Seruloplazmin	21,6±4,494	22,612±3,436	39,5	0,421

Tablo 9:

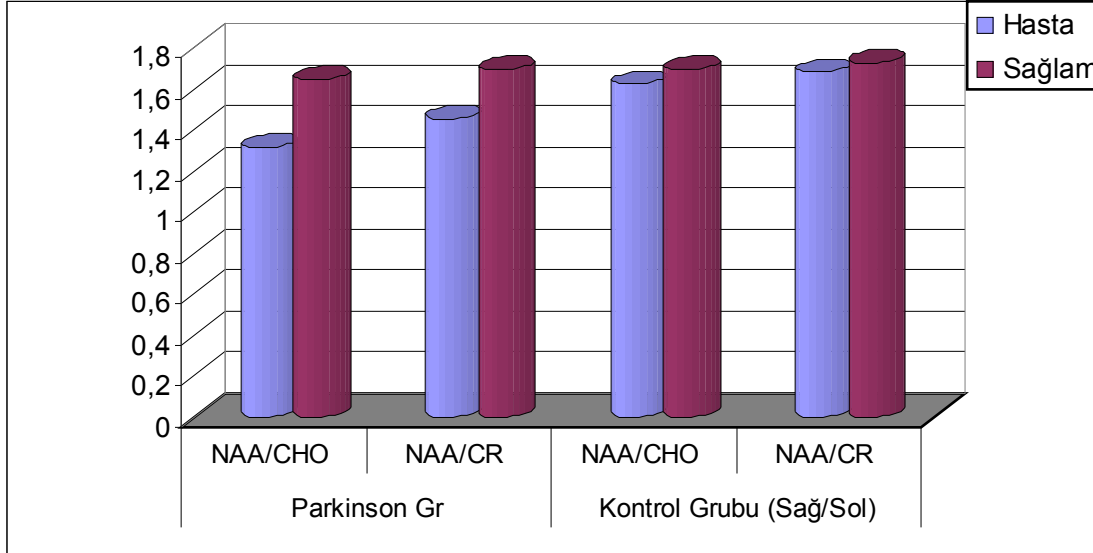
BK: Bradikinezi

TR: Tremor

TABLolar

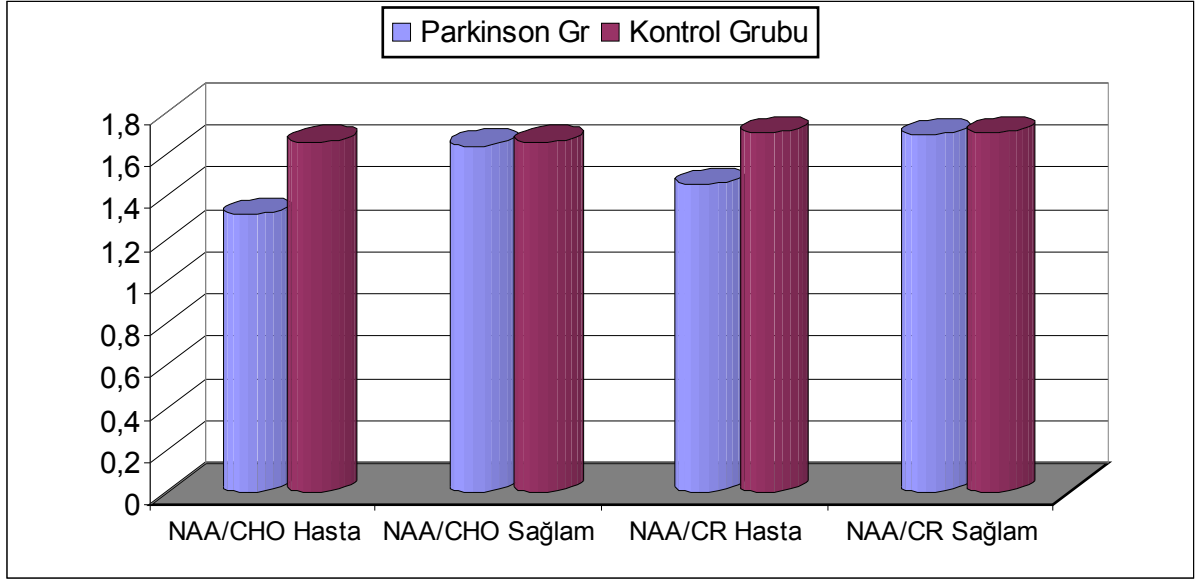


Grafik 1: Grupların yaş ve cinsiyet açısından şematizasyonu

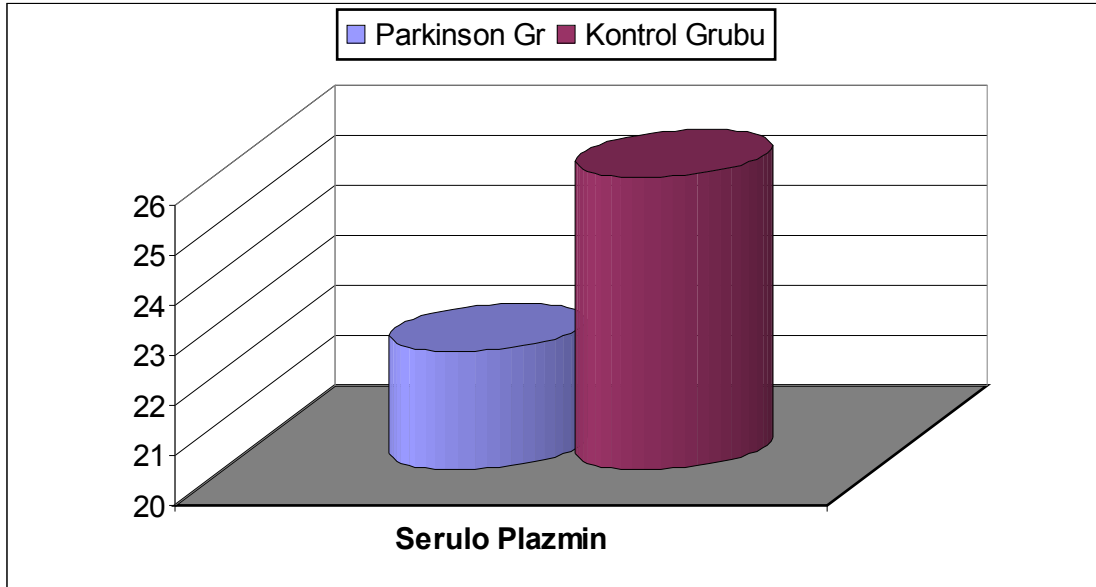


Grafik 2: Parkinson hasta grubunun proton MRS verileri ile kontrol grup verilerinin şematizasyonu

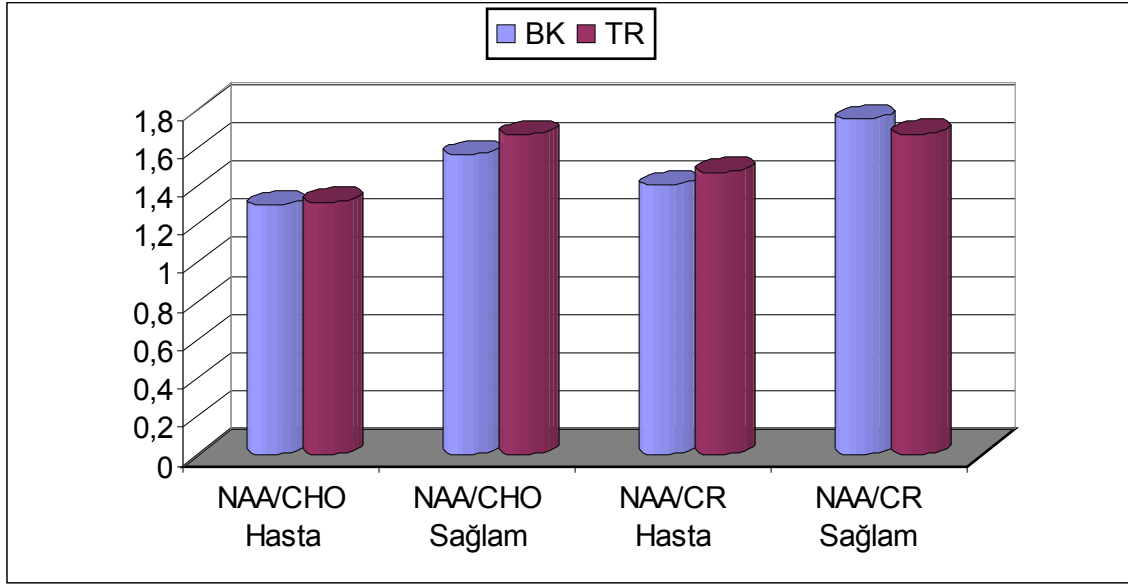
(hasta: kontralateral; sağlam ipsilateral verileri ifade etmektedir)



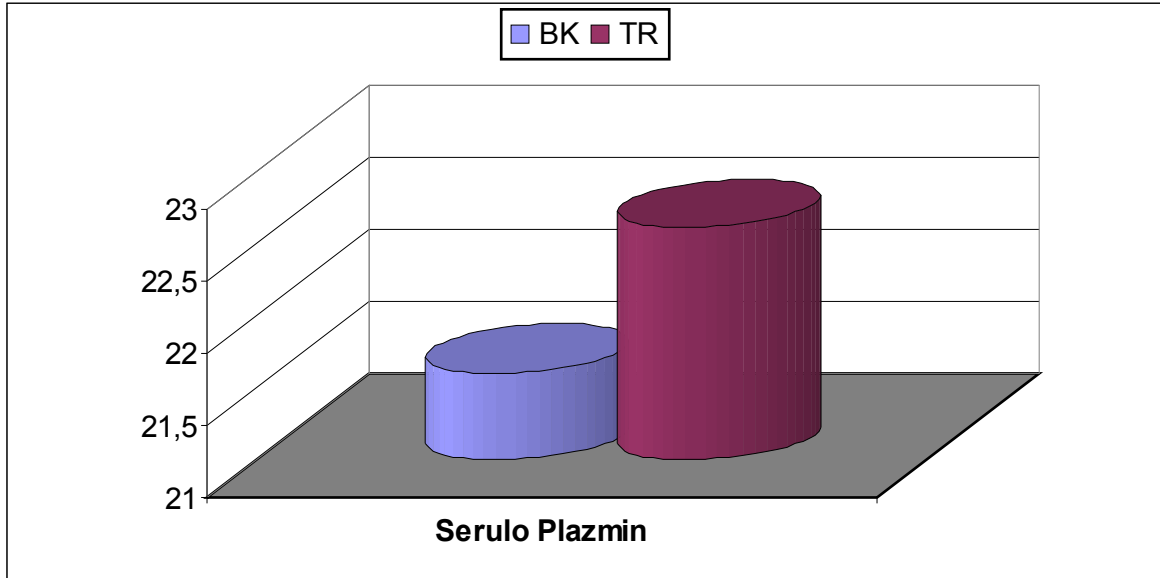
Grafik 3: Parkinson hasta grubunun ipsilateral ve kontralateral proton MRS verilerinin kontrol grup verileri ile karşılaştırılması



Grafik 4: Her 2 grup seruloplazmin düzeylerinin karşılaştırılması



Grafik 5: Parkinson hastalarının klinik olarak baskın tablolarının (BK: bradikinezi, TR: tremor) proton MRS verileri ile karşılaştırılması



Grafik 6: Parkinson hastalarının klinik olarak baskın tablolarının serulo plazmin düzeyleri ile karşılaştırılması

TARTIŞMA

İdiopatik Parkinson hastalığında, konvansiyonel histopatolojik incelemeler, striatumdaki nöron kaybını değerlendirmekte yeterli netlikte sonuç verememektedir. Kaudat nukleusun ultrastrüktürel incelemesi, nöronlarda transsinaptik dejenerasyon olduğunu ortaya koymuştur ve bu da idiyopatik Parkinson hastalığında (IPH), intrinsik striatal nöronların anormal fonksiyon gördüğünü düşündürmektedir (114,115). Yaşayan hastalarda striatumun nörokimyasal ve metabolik değişikliklerini incelemek metodolojik zorluklar nedeniyle oldukça güçtür, bu nedenle IPH' da invivo striatal değişiklikler hususunda çok az bilgi mevcuttur.

Proton MR spektroskopisi serebral metabolitleri araştırmak amacıyla kullanılan noninvazif bir metoddur. Literatürde ¹H-MRS tekniği ile Parkinson hastalarında yapılan çalışmalar mevcuttur. Davie ve ark (116) ve Holshouser ve ark. (117) Parkinson hastalarını ve sağlıklı kontrolleri karşılaştırdıklarında striatal NAA/(Cr+PCr) ve Cho/Cr oranları açısından farklılık saptamamıştır. Ancak Holshouser (117), geç başlangıçlı hastalarda (51-70 yaş), erken başlangıçlı vakalara oranla (27-50 yaş) daha düşük NAA/Cho oranı saptamıştır. Chaudhuri ve ark. ise putamen üzerine yerleştirilmiş daha küçük boyutlu voxel kullanarak yaptıkları çalışmada, yaş uyumlu kontrollerle karşılaştırdıklarında, kronik levodopa tedavisi alan diskinetik IPH' larında NAA/(Cr+PCr) ve NAA/Cho oranlarının daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir (118). Simoes ve ark. (119), IPH' larında daha düşük NAA/Cho düzeyi rapor etmişlerdir. Chaudhuri ve ark bir sonraki çalışmalarında (120), tedavi almamış ve levodopa tedavisi alan hastaların ve yaş uyumlu sağlıklı kontrollerin MRS sonuçlarını karşılaştırmışlar ve putaminal NAA/Cho oranının tedavi almayan hastalarda bilateral anlamlı olarak daha düşük olduğunu saptamışlardır. Bu sonuç, erken dönemde, tedavi almayan Parkinson hastalarında MRS'in striatumdaki kimyasal değişiklikleri takip etmekte sensitif bir yöntem olabileceği yönünde umut kaynağı olmuştur. Holshouser, L- dopa tedavisi alan hastalarda normal NAA/Cho oranı saptamış olup, NAA/Cho oranının L-dopa tedavisi ile etkilenebileceği, hastalığın erken döneminde düşen NAA/Cho oranının levodopa tedavisi ile normalize olabileceği ve NAA'in striatal disfonksiyonun nöronal göstergesi olduğu spekülasyonunu yapmıştır (117). Ancak çalışmada, bu değişimin kolin düzeyinin artışından

mı yoksa NAA düzeyinin azalmasından mı kaynaklandığı tam olarak ortaya konamamıştır. Ancak Clarke ve ark. yaptıkları diğer bir çalışmada, Kolin düzeyini sağlıklı kontrollerle karşılaştırmışlar ve bir farklılık olmadığını ortaya koymuşlardır (121). Ayrıca, Chaudhuri'nin çalışmasında, Cho/(Cr+PCr) oranları gruplar arasında farklılık göstermeyip, dolayısıyla, değişikliğin NAA düzeyinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu konudaki diğer bir hipotez ise, hastalığın erken fazında hem NAA hem de kolin düzeyinin etkilenip, bunun kombinasyonunun anlamlı bir farklılığa yol açtığıdır.

Kolin, fosfolipid metabolit sinyaline işaret eder ve nöronal mebran integritesini temsil etmektedir. Bu parametre, IPH'lığında dopaminin azalma sürecinde ilaç alınmama durumunda değişim gösterebilir (122,123). İlginç olarak, PET ve SPECT çalışmaları, erken dönemde levodopa tedavisi almayan hastalarda, striatal D2 dopamin reseptör subtiplerinin artış gösterdiğini, ancak ilerleyen dönemlerde D2 reseptör seviyesinin normale dönüp veya azaldığını saptamıştır (124,125). Bu durum kısmen dopaminerjik ilaçların etkisine bağlı olup, MRS çalışmasındaki l-dopa kullanan ve kullanmayan gruplar arasındaki farklılığı kısmen açıklayabilmektedir.

Chaudhuri'nin çalışmasında, levodopa tedavisi alan ve almayan hasta grupları aynı yaş ortalamalarına sahip olup, dolayısıyla NAA/Cho oranının farklılığının yaşla ilintisiz olduğu sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda hastalık süresi, şiddeti ve asimetrisi ile ölçülen değerler arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir.

Davie ve ark. tarafından yapılan çalışma ise, multisistem atrofi ve idiopatik Parkinson hastalığının proton MR spektroskopisi yardımıyla ayırıcı tanısı üzerine kuruludur (116). TE 270 ms'de lentiform nükleus'tan çalışma yapılmıştır. MSA grubunda sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında anlamlı olarak azalmış NAA/kreatin oranı (ort, 1.19; 0.96-2.0; p <0.02) saptanmış olup, IPH grubunda sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında, normal NAA/ kreatin düzeyi (ort. 1.82, 1.19-2.31; p>0.5) rapor edilmiştir. NAA/ kreatin düzeyindeki azalmanın, nöronal ve/veya aksonal kayıp olan durumlarda ortaya çıktığı ve MSA nigrostriatal varyantında, bu kaybın patolojik olarak belirgin olduğu saptanmıştır. IPH sonuçları hususunda ise, lentiform nükleus patolojik çalışmaları, nöronal korunmanın izlendiği (126) ve MRS sonuçlarında bu nedenle sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında bir farklılık

saptanmadığı ifade edilmiştir. Bu çalışmada yapılan diğer bir önemli yorumda, striatumda oluşabilecek muhtemel demir birikiminin, sitotoksik serbest radikal oluşumunu indükleyerek, nöronal kayıba yol açması ve bu nedenle NAA/ kreatin oranının düşmüş olabilme ihtimalidir. Teorik olarakta, demir depolanmasının, metabolitlerin relaksasyon zamanını etkileyebileceği bilinmektedir ve NAA/kreatin oranında azalmaya neden olabilir. Çalışmada, bu iki hipotez hususunda da net yorum yapılamamıştır.

Clarke ve Lowry 2001 yılında yazdıkları sistemik derleme yazılarında, IPH'larında daha önce yapılan MRS çalışmalarını yorumlamışlar (127), ve farklı sonuçların teknik farklılıklardan kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir.

Idiopatik Parkinson hastalığında, yapılan MRS çalışmalarında, temel olarak ortaya konulan sonuç, metabolit değişimlerinin nörodejenerasyonun bir göstergesi olduğu yönündedir. Nörodejenerasyonun kesin nedeninin henüz ortaya konulamamış olmasına ek olarak, muhtemel etkenlerin yelpazesi oldukça geniştir. Ancak kesin bilinen ve patolojik olarakta ispatlanan nokta, demir birikimi olduğudur. Biz de, çalışmamızda, bu uzun listeye birden fazla özelliğiyle katılmaya hak kazanan serüloplazminin Parkinson hastalığındaki yerini araştırdık. Parkinson hastalığında, sonuçları birbirinden farklı olmakla beraber, yapılan MRS çalışmaları mevcuttur ancak, literatürde, bu sonuçların farklı bir biokimyasal parametre ile karşılaştırılması üzerine kurulu olan ve serüloplazminin bunlarla bağlantısını içeren başka bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Serüloplazminin nörodejeneratif hastalıkların etyolojisinde rol oynayabileceği hipotezi halen geçerlidir. Serüloplazminin bakır transportundaki rolü uzun zamandır bilinmektedir. Ancak son çalışmalar, serüloplazminin bakır metabolizmasından ziyade demir metabolizmasında önemli rolü olduğunu ortaya koymaktadır. Aslında, plazma bakırının %95'i serüloplazmin içinde ihtiva edilmektedir. Bu bakırın, doku bakırı ile serbestçe değişimi olmamaktadır ve bakır aslında serüloplazmin turnover'ını regüle etmemektedir. Dolayısıyla, serüloplazmin eksikliği olan kişilerde bakır metabolizması normaldir (128). Tam aksine, seyrek görülen otozomal resesif bir bozukluk olan aserüloplazminemia'da serüloplazmin yokluğu demirin biyolojik aktivite ve dağılımını etkilemektedir.

Seruloplazmin, bir plazma ferooksidaz olup, apotransferrin yardımı ile ferröz demirin ferik demire oksidasyonunu regüle eder. Transferrine bağlanan demir, hemoglobin sentezi ve eritropoezis amacıyla kemik iliğine ilerler. Eritrositlerin degradasyonu sonrası, seruloplazmin retikuloendotelial sistemden demiri serbest bırakır. Demirin transferine bağlanması, dokuyu direkt demir hasarından koruyan, major antioksidan savunma mekanizmasıdır.

Klinik olarak aseruloplazminemia, diabetes mellitus, pigmenter retinal dejenerasyon ve nörolojik hastalık triadını içermektedir. Azalmış, plama seruloplazmin konsantrasyonu, Menkes (Kinky hair) ve Wilson hastalığı için anahtar diagnostik biyolojik göstergedir. Her iki durumda P-tipi bakır transport ATP'azı kodlayan gende defekt vardır.

Parkinson hastalığının da dahil olduğu bazı nörodejeneratif hastalıklarda, demirin neden olduğu oksidatif stresin etkin olduğu düşünülmektedir (129). S. Johnson, (130), 'Parkinson hastalığı Wilson hastalığının heterozigot formu mudur?' isimli yazısında, Wilson hastalığı heterozigotlarında, seruloplazmin üretiminin azalması ve bakırın bununla korele olarak daha yavaş birikimi neticesinde, Parkinson hastalığı ortaya çıkış riskinin arttığını iddia etmiştir.

Bu noktadan çıkış olarak, çalışmamızın 1. basamağını, Parkinson hastalarının serum seruloplazmin düzeylerinin belirlenmesi oluşturdu. Bu verilerin, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha düşük olduğunu fark ettik. Bu düşüklük hastalık süreci, hastalığın başlangıç yaşı, hastalık progresyonu (UPDRS; H&Y) ile korele değildi. Her iki grupta vakaların yaşları ile seruloplazmin düzeyleri arasında korelasyon gözlenmemiştir. (kontrol: $r=0.454$, $p=0.138$)

Vakaların MR Spektroskopi incelemeleri çalışmanın 2 basamağı niteliğindedir. Bölge olarak dopamin kaybının en yoğun olduğu putaminal alan seçildi. IPH' larında, bilateral putaminal bölgeden ölçümler yapıldı. Hastaların klinik bulgularının baskın olduğu tarafın (Ipsilateral) ve karşı taraf (kontralateral) putaminal bölge metabolit verileri karşılaştırıldığında, kontralateral ortalama NAA/Cho ve NAA/Cr değerleri, ipsilateral değerlerden anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p=0.0001$). Sağlıklı kontrol grubunda kontralateral ve ipsilateral ortalama NAA/Cho ve NAA/Cr değerleri arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmayıp, parkinson gubunun ipsilateral NAA/Cho ve NAA/Cr değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık

gözlenmemiştir. Ancak parkinson grubunun kontralateral NAA/Cho ve NAA/Cr ortalama değerleri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. ($p=0.0001$). Bu verilerin hastalık süreci, hastalık başlangıç yaşı, hastalık progresyonu (UPDRS, H&Y) ve L-dopa kullanım süresi ile anlamlı bir korelasyonu saptanmamıştır.

Çalışmanın 3. basamağında ise MRS sonuçlarının, serum seruloplazmin düzeyleri ile bağlantısı araştırılmıştır ve Parkinson grubunda kontralateral NAA/Cho düşüklüğü ile serum seruloplazmin düşüklüğü arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir. Bu sonuçta, seruloplazminin nörodejenerasyonun göstergesi olduğu ve ölçülebilen bir değer olabilmesi nedeniyle, hastalığın monitorizasyonunda fayda sağlayabileceği hipotezimizi doğrulamış oldu.

Bu sonuçlar ışığında öne sürülebilecek diğer bir hipotezde, Parkinson hastalığının ortaya çıkışında, seruloplazmini kodlayan genin rolünün olup, olmadığıdır. Bunu netleştirmek ise yapılması gereken genetik çalışma sonuçları ile mümkün olacaktır. Olumlu bir sonuca varılması dahilinde, belki de gelecekte Parkinson tedavisi tamamen yön değiştirecek, hatta gen tedavisi ile semptomlar ortaya çıkmadan tedavisi mümkün olacaktır.

ÖZET

Nörodejeneratif hastalıklarda nöronal hücre ölümünün etyolojisi henüz tamamen aydınlatılamamıştır. Santral sinir sisteminde görülen ve farklı hücre popülasyonlarının kaybına neden olan mekanizmalar arasında eksitoksisite, mitokondriyal enerji metabolizması bozuklukları, artan hücre içi kalsiyum düzeyleri ve serbest radikaller yer almaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu mekanizmaların birlikte etkin olabileceğine ilişkin hipotezler mevcuttur.

Seruloplazminin antioksidan fonksiyona sahip olduğu daha önce yapılan çalışmalarla ispatlanmıştır. Bilinen bakır transportundaki görevi haricinde, son dönem yapılan çalışmalarda seruloplazminin demir metabolizmasında çok daha önemli bir rol oynadığı ve dokuları serbest demir hasarından koruduğu netleşmiştir. Serüloplazmin yetersizliğinin, artmış lipid peroksidasyonu, azalmış mitokondriyal enerji üretimi ve demir aracılı serbest radikallerin artması nedeniyle nöronal hücre hasarına yol açtığı bilinmektedir.

Bu çalışmada, bu noktadan çıkış olarak Parkinson hastalığı etyopatogenezinde seruloplazmin düşüklüğünün rolü olup olmadığı araştırılmış ve yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Parkinson hasta grubunda serum seruloplazmin düzeyi istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($p=0.005$).

Çalışmanın sonraki basamağında, bu düşüklüğün nörodejenerasyonla bağlantısı araştırılmış ve bu amaç içinde noninvazif bir yöntem olan proton MR spektroskopisi tercih edilmiştir.

Proton MRS çalışmasında öncelikle Parkinson hasta grubunun bilateral putaminal NAA/Cr ve NAA/Cho düzeyleri incelenmiş ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Hasta grubunda kontralateral (klinik semptomların baskın olduğu tarafın karşı taraf) putaminal ortalama NAA/Cho ve NAA/Cr değerleri, ipsilateral verilerden anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır ($p=0.0001$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da sonuçların yine anlamlı olarak düşük olduğu gözlenmiştir ($p=0.0001$). İpsilateral değerler ile kontrol grup değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu sonuçlar eşliğinde, seruloplazmin

değerleri analiz edilmiş ve Parkinson grubunda seruloplazmin düşüklüğü ile kontralateral NAA/Cho düşüklüğü arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmiştir.

Çalışmanın sonuçları, seruloplazmin düşüklüğünün nörodejenerasyonda ve Parkinson hastalığı etyopatogenezinde rolü olduğu hipotezimizi doğrulamıştır.

Çalışmada ayrıca seruloplazmin düzeyi ile hasta yaşı, hastalığın klinik progresyonu (UPDRS, H&Y), hastalık başlangıç yaşı, süreci, L-dopa kullanım süresi analiz edilmiş, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir.

Seruloplazmin düşüklüğünün nedeni, gen lokusu ile bağlantısı olup olmadığı sorularının yanıtını gelecekte yapılması gereken genetik çalışmalar verecektir.

KAYNAKLAR

1. Beal M.F. Aging, energy and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann. Neurol.* 38: 357-366, 1995.
2. Davies K. J. A: Oxidative stres: The paradox of aerobic life. *Biochem. Soc. Symp.* 61: 1-31, 1995
3. Dawson T.M., Dawson V.L., Snyder S.H.: A noval neuronal massenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide. *Ann. Neurol* 32:297-311,1992.
4. Gutteridge J. M. C.: Hydroxyl radicals, iron, oxidative stres and neurodegeneration. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 738: 201-213,1994.
5. Halliwell B., Gutteridge J. M.: Oxygen radicals and the nervous system. *Trends. Neurol. Sci.* 1: 22-26, 1985.
6. Halliwell B.: Oxygen radicals as key mediators in neurological disease: Fact or fiction? *Ann. Neurol.* 32: S10-S15, 1992
7. Jenner P.: Oxidative damage in neurodegenerative disease. *Lancet* 344: 796-798, 1994
8. Heiwell P.O., Larsson P.A, Dahlstrom A.: Further evidence for the involvement of microtubules in the proximo-distal intra-axonal transport of acetylcholine and related enzymes in rat sciatic nevre. *Acta Physiol. Scand.* 104: 156-166, 1978.
9. N Frost, J. J, Rosier A. J., Reich S.G., Smith J. S., Ehlers, M. D., Synder S.H. Positron emission tomographic imagine of the dopamine transporter with 11C- win 35 428 reveals marked declines mild Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 34: 423- 431, 1993.

10. N. Bernheimer, H., Birkmayer W., Hornykiewicz, O., Jellinger, K., Seitelberger F., Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations. *J. Neurol Sci.*, 20(4): 415-455, 1973.
11. N. Zheng Xu-ning, Zhu Xiong-chao, Ruan Ling-xiang et al. MRS study on lentiform nucleus in idiopathic Parkinson's disease with unilateral symptoms. *J. Zhejiang Univ. SCI* 2004 5(2): 246-250
12. John Gilroy. *Basic Neurology*. Sf: 182
13. Evans P.H.: Free radicals in brain metabolism and pathology. *British Med. Bull.* 49: 577-587, 1993
14. Strange P.G.: *Brain Biochemistry and brain disorders*. Oxford University Pres, London, 1996.
15. Weber G. F: The pathophysiology of reactive oxygen intermediates in central nervous system. *Med. Hypothes.* 43: 223-230, 1994
16. Gerlach M., Rieder P., Youdim M. B. H: Molecular mechanisms for neurodegeneration. Ed: Battistin L., Scarlato G., Caraceni T., Ruggieri S. *Advances in Neurology Vol 69*, s. 177-194, Lippincott- Raven Publishers, Philadelphia, 1996.
17. Beal M.F.: Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. *Biochem. Biophys. Acta* 1366: 211-223, 1998.
18. Schapira A.H.V: Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative disorders. *Biochem. Biophys. Acta* 1366: 225-33,198
19. Turski L., Turski W.A.: Towards an understanding of the role of glutamate in neurodegenerative disorders: energy metabolism and neuropathology. *Experientia* 49: 1064-1072, 1993.

20. Olenow C.W., Tatton W.G., Jener P.: Mechanisms of cell death in Parkinson's disease. In: Jankovic J.J., Tolosa E., Parkinson's disease and movement disorders. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 4th. Edition., 38-59 (2002).
21. Schapira A.H.V.: Neuroprotection and dopamine agonists. In: Koller W.C., (Ed). The new role of dopamine agonists in Parkinson's disease and restless leg syndrome. Neurology 58 (4), Suppl. 1, s9-s18 (2002).
22. Darnell J., Lodish H., Baltimore D.: Molekulare Zellbiologie. Walter de Gruyter, Berlin (1994).
23. Herdegen T.: Neurobiologische Grundlagen der Funktion und degenerativen Störungen des Nervensystems. In: herdegen T. Et al. Klinische Neurobiologie. Spektrum Akademischer verlag, heilderberg, 1-38 (1997)
24. Moosmann B., Behl C.: Antioxidants as treatments for neurodegenerative disorders. Expert Opin Investig. Drugs 11 (10), 1407-1435 (2002).
25. Voigtlander von., P.F., Fici G.J., Althaus J.S.: Pharmacological approaches to counter the toxicity of dopa. Aminoacids 14, 189-196 (1998).
26. Oertel W.H., Kupsch A.: Pathogenese der Parkinson- Krankheit. In: Huffmann G. Klinische Neurologie, Bd. II. Einhorn- Presse Verlag, Reinbek, 487-497 (1999).
27. Gutteridge J.M.C.: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin. Chem. 41: 1819-1828, 1995.
28. Kehrer J.P., Smith C.V.: Free radicals in biology: sources, reactives and roles in etiology of human diseases. Ed: Frei B., Natural Antioxidants in human health and disease, s: 25-62, Academic Pres, San Diego, 1994.

29. Akkuş İ.: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları Konya, 1995.
30. Halliwell B., Gutteridge J.M.C.: Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Meth. Enzymol.* 186: 1-85,1990.
31. Yalçın A.S.: Antioksidanlar. *Klinik gelişim* 11: 342-346, 1998.
32. McNamara M.: Cellular and molecular basis of epilepsy. *J. Neurosci.* 14: 3413-3425, 1994.
33. Ascher P.: Glutamate receptors and glutamatergic synapses. Ed: Evangelopoulos A. E., *Receptors, Membrane transport and signal transduction*, s. 127-146, Springer- verlag, Berlin heidelberg 1989.
34. Lipton S.A., Rosenberg P.A.: Excitatory aminoacids as a final common pathway for neurologic disorders. *N. Engl. J. Med.* 330: 613-622, 1994.
35. Strijbos P.J.L.M.: Nitric oxide in cerebral ischemic neurodegeneration and excitotoxicity. *Crit. Rev. Neurobiol.* 12: 223-243, 1998.
36. Berridge M.J., Bootman M.D., Lipp P.: Calcium-a life and death signal. *Nature* 395: 645-648, 1998.
37. Nicholls D.G., Budd S.L.: Mitochondria and neuronal glutamate excitotoxicity, *Biochim. Biophys. Acta* 1366: 97-112, 1998.
38. Stahl S.M.: *Essential Psychopharmacology*. Cambridge University Pres, 2nd. Ed. (2000).
39. Dy, M., Vazquez A., Bertoglio J. et al. General aspects of cytokine properties and functions. In: Theze J. (Ed). *The cytokine network and immune functions*. Oxford University Pres, New York, 1-13 (1999)

40. Bennett DA, Beckett LA, Murray AM, et al. Prevalence of parkinsonian signs and associated mortality in a community population of older people. *N Engl J Med* 1996;334:71-76.
41. Morens DAM, Davis JW, Grandinetti A, Ross GW, Popper JS, White LR. Epidemiologic observations on Parkinson's disease: incidence and mortality in a prospective study of middle-aged men. *Neurology* 1996;46:1044-1050.
42. Louis ED, Marder K, Cote L, Tang M, Mayeux R. Mortality from Parkinson disease. *Arch Neurol* 1997;54:260-264.
43. Rajput AH, Rozdilsky B, Rajput A. Accuracy of clinical diagnosis in parkinsonism -- a prospective study. *Can J Neurol Sci* 1991;18:275-278.
44. Hughes AJ, Daniel SE, Blankson S, Lees AJ. A clinicopathologic study of 100 cases of Parkinson's disease. *Arch Neurol* 1993;50:140-148.
45. Lang AE, Riley DE, Bergeron C. Cortical-basal ganglionic degeneration. In: Calne DB, ed. *Neurodegenerative diseases*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994:877-94.
46. Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain* 1991;114:2283-2301.
47. Kish SJ, Shannak K, Hornykiewicz O. Uneven pattern of dopamine loss in the striatum of patients with idiopathic Parkinson's disease: pathophysiologic and clinical implications. *N Engl J Med* 1988;318:876-880.
48. Uhl GR, Walther D, Mash D, Faucheux B, Javoy-Agid F. Dopamine transporter messenger RNA in Parkinson's disease and control substantia nigra neurons. *Ann Neurol* 1994;35:494-498.

49. Gai WP, Blessing WW, Blumbergs PC. Ubiquitin-positive degenerating neurites in the brainstem in Parkinson's disease. *Brain* 1995;118:1447-1459.
50. Bergeron C, Petrunka C, Weyer L, Pollanen MS. Altered neurofilament expression does not contribute to Lewy body formation. *Am J Pathol* 1996;148:267-272.
51. Trojanowski J, Lee VMY. Phosphorylation of neuronal cytoskeletal proteins in Alzheimer's disease and Lewy body dementias. *Ann N Y Acad Sci* 1994;747:92-109.
52. Gibb WRG, Lees AJ. The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988;51:745-752.
53. Calne DB, de la Fuente-Fernández R, Kishore A. Contributions of positron emission tomography to elucidating the pathogenesis of idiopathic parkinsonism and dopa responsive dystonia. *J Neural Transm Suppl* 1997;50:47-52.
54. Burke RE. Programmed cell death and Parkinson's disease. *Mov Disord* 1998;13:Suppl 1:17-23.
55. Kösel S, Egensperger R, von Eitzen U, Mehraein P, Graeber MB. On the question of apoptosis in the parkinsonian substantia nigra. *Acta Neuropathol (Berl)* 1997;93:105-108.
56. Beck KD, Valverde J, Alexi T, et al. Mesencephalic dopaminergic neurons protected by GDNF from axotomy-induced degeneration in the adult brain. *Nature* 1995;373:339-341.
57. Gash DM, Zhang ZM, Ovadia A, et al. Functional recovery in parkinsonian monkeys treated with GDNF. *Nature* 1996;380:252-255.

58. McGeer EG, McGeer PL. Neurodegeneration and the immune system. In: Calne DB, ed. Neurodegenerative diseases. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994:277-99.
59. Zhang Z-X, Roman GC. Worldwide occurrence of Parkinson's disease: an updated review. *Neuroepidemiology* 1993;12:195-208.
60. Manyam BV. Paralysis agitans and levodopa in 'Ayurveda': ancient Indian medical treatise. *Mov. Disord.* 1990;5:47-48
61. de Rijk MC, Breteler MMB, den Breeijen JH, et al. Dietary antioxidants and Parkinson disease: the Rotterdam Study. *Arch Neurol* 1997;54:762-765.
62. Tanner CM, Ottman R, Ellenberg JH, et al. Parkinson's disease (PD) concordance in elderly male monozygotic (MZ) and dizygotic (DZ) twins. *Neurology* 1997;48:Suppl:A333-A333.abstract
63. Semchuk KM, Love EJ, Lee RG. Parkinson's disease: a test of the multifactorial etiologic hypothesis. *Neurology* 1993;43:1173-1180.
64. Ian Kuijk, F. J. G. M.; Sevanian, A.; Handelman, G. J.; Dratz, E. A. *TIBS.*, 1987, 12 , 31-34.
65. Ursini, F.; Maiorino, M.; Valente, M.; Ferri, L.; Gregolin, C. *Biochim Biophys Acta.*, 1982, 710, 197-211.
66. Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. *Arch Biochem Biophys.*, 1990, 280, 1-8.
67. Kanner, J.; German, J. B.; Kinsella, J. E. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 1987, 25, 317-64.
68. Plachta H, Bartnikowska E, Obara A. Lipid peroxides in blood from patients with atherosclerosis of coronary and peripheral arteries. *Clin Chim Acta* 1992; 211:101-2

69. Oberley LW: Free radicals and diabetes. *Free Radical Biol Med* 1988; 5: 113-24
70. Sudha K, Rao AV, Rao A. Oxidative stress and antioxidants in epilepsy. *Clin Chim Acta* 2001; 303: 19-24
71. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen derived free radicals and metabolites in leukocyte dependent inflammatory reactions. *Am. J. Pathol* 1982; 107: 397-418
72. Sundstrom H, Korpela H, Vinikka L, Kauppila A. Serum selenium and GP and plasma lipid peroxides in uterine, ovarian or vulvar cancer and their responses to antioxidant in patients with ovarian cancer. *Cancer Lett* 1984; 24: 1-10
73. Barber AA, Bernheimer F. Lipid peroxidation its measurement occurrence and significance in animal tissues. *Adv Gerontol Res* 1967;2: 355-403.
74. Cohen G. Oxygen radicals and Parkinson disease. In: *Proceedings of Upjohn Symposium, fed Amer Soc Exp Biol (Bethesda MD)* 1987. pp. 130-5
75. Youdim MB, Ben-Shacher D. The possible role of iron in the etiopathology of Parkinson's disease. *Mov Disord* 1993; 8: 1-12
76. Youdim MB, Riederer P. Understanding Parkinson's disease. *Sci Am* 1997; 1:38-45
77. Pamela Bielli and Lilia Calabrese: Structure tu function relationships in ceruloplasmin-medline
78. Lindley, P., Card , G., Zaitseva, I., Zeitsev, V., Reinhammer, B., Selin-Lindgren, E. et. al. *J. Biol. Inorg. Chem.*, (1997) **2**, 454 – 463.
79. Harris, Z.L., Durley, A.P., Man, T.K. and Gitlin, J.D. *Med. Sci.*, (1999) 96, 10812-10817.

80. Mouithys-Mickalad, A., Deby, C., Deby-Depont, C. and Lam, M. *Biometals* (1998) 11, 81-88.
81. Harris, E.D. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, (1991) 196, 130 - 140.
82. Morita, H., Ikeda, S., Yamamoto, K., Morita, S., Yoshida, K., Nomoto et. al. *Ann. Neurol.*, (1995) 37, 64 – 65.
83. Spira-Solomon, D.J., Allendorf , M.D. and Solomon E.I. *J. Am. Chem. Soc.*, (1986) 108, 5318 – 5328.
84. Frieden, E. and Hsieh, H.S. *Adv. Enzymol.*, (1976) 44, 187 – 236.
85. Musci, G., Bellenchi, G.C., and Calabrese, L. *Eur. J. Biochem.*, (1999) 265, 589-590.
86. Burkitt, M.J. *Prog. Reac. Kin. Mech.*, (2003) 28, 75-103.
87. Cha, M.K. and Kim, I.H. *Biochemistry*, (1999) 38, 12104 – 12110.
88. Park, Y.S., Suzuki, K., Taniguchi, N. and Gutteridge, J.M.C. *F.E.B.S. Lett.*, (1999) 458, 13-136.
89. Mukhopadhyay, C.K., Mazumder, B., Lindley, P. and Fox, PL. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* (1997) 94, 11546-11551.
90. Akaike, T. *Free Radic. Res.*, (2000) 33, 461 – 469.
91. Musci, G., Di Marco, S., Bonaccorsi di Patti ,M.C. and Calabrese, L. *Biochemistry*, (1991) 30, 9866 – 9872.

92. Nina Konstantinivna R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, oncology and Radiobiology of Ukraine- Medline
93. Xu X., Pin S., Gathinji M., Haris ZL. Aceruloplasminemia: an inherited neurodegenerative disease with impairment of iron homeostasis. *Ann N. Y. Acad Sci.* 2004 Mar; 1012: 299-305
94. Miyajima H., Kono S., Takahashi Y., Sugimoto M. Increased lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction in aceruloplasminemia brains. *Blood cells Mol Dis.* 2002 Nov; 29 (3): 433-8
95. Bharatkumar N., Robert J. Dunn, Suh Young Jeong, J. Pierre Julien. Ceruloplasmin regulates iron levels in the CNS and prevents free radical injury. *The Journal of Neuroscience*, Aug 1, 2002, 22(1)
96. Rudkin T.M., Arnold D.L. : Proton MR Spectroscopy in diagnosis and treatment of cerebral diseases. *Arch Neurol* 1999; (56):919-26.
97. Ricci P.E. : Proton MR Spectroscopy in ischemic stroke and other vascular disorders. *Neuroimaging Clin N Am.* 1998; 8(4):881-900.
98. Castillo M., Smith J.K., Kwock L. : Correlation of myoinositol levels and grading of cerebral astrocytomas. *AJNR* 2000; (21):1645-9.
99. Ramin L., Tognolo W.A., Spotti A.R. : Proton MR Spectroscopy: Clinical applications in patients with brain lesions. *Sao Paulo Med. J.* 2003; 121(6).
100. Roitberg B., Khan N., Tuccar E. : Chronic ischemic stroke model in cynomolgus monkeys: behavioral, neuroimaging and anatomical study. *Neurol Res.* 2003; 258:68-78.
101. Rex A., Shonk M., Shonk T. : Evaluation of automated MR Spectroscopy: Application in Alzheimer Disease. *AJNR* 1995; (16):1779-82.

102. Waldman AD., Rai GS. : The relationship between cognitive impairment and in vivo metabolite ratios in patient with clinical Alzheimer Disease and vascular dementia: a proton MR Spectroscopy study. *Neuroradiology* 2003; 45(8):507-12.
103. Federico F., Simone I.L., Lucivero V. : Prognostic value of proton MR Spectroscopy in ischemic stroke. *Arch Neurol.* 1998; (55):489-94.
104. Nicoli F., Lefur Y., Ranjeva J: Metabolic counterpart of decreased apparent diffusion coefficient during hyperacute ischemic stroke: a brain proton MR Spectroscopy imaging study. *Stroke* 2003; 34(7):82-7.
105. E.F. Jackson, In vivo magnetic resonance spectroscopy in humans: A brief review. *Am. J. Physiol. Imaging* 7 (1992) pp. 146-154
106. B.L. Miller, A review of chemical issues in ¹H NMR spectroscopy: N-acetyl-L-aspartate , creatine and choline. *NMR Biomed* 4(1991) pp. 47-52
107. Prichard J.W.; Brass L.M. New anatomical and functional imaging methods. *Ann Neurol* 32:395-400; 1992
108. J.R. Moffet, M.A. Namboodiri, C.B. Cangro. Immunohistochemical localisation of N-acetylaspartate in rat brain. *Neuroreport* 2 (1991), pp. 131-34
109. D.L. Birken, W.H. Oldendorf. N-acetyl-L-aspartic acid: A literature review of a compound prominent in ¹H-NMR spectroscopic studies of the brain. *Neurosci. Rev.* 13 (1989) pp. 23-31
110. Urenjak J., Williams D.G., Gadian N.M. Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy unambiguously identifies different neural cell types. *J. Neurosci.* 13 (1993), pp. 981-989

111. P.B. Barker, S.N. Breiter., B.J. Soher. Quantitative proton spectroscopy of canine brain: In vivo and in vitro correlations. *Magn. Reson. Med* 32 (1994),pp. 157-163
112. B.L. Miller. A review of chemical issues in ¹H NMR spectroscopy : N-acetyl-L-aspartate, creatine and choline. *NMR Biomed* 4 (1991),pp. 47-52
113. Prichard JW:, What the clinician can learn from MRS lactate measurements. Review. *NMR Biomed* 1991; 4:99-102
114. Gibb WRG, Lees AJ. Anatomy, pigmentation, ventral and dorsal subpopulations of the substantia nigra and differential cell death in Parkinson's disease. *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991; 54: 388-396
115. Lach B, Grimes D, Benoit B, Minkiewicz JA. Caudate nucleus pathology in Parkinson's disease: ultrastructural and biochemical findings in biopsy material. *Acta Neuropathol (Berl)* 1992; 83:352-360
116. Davie CA, Wenning GK, Barker GJ, et al. Differentiation of multiple system atrophy from idiopathic Parkinson's disease using proton magnetic resonance spectroscopy. *Ann Neurol* 1995; 37:204-210
117. Holshouser BA, Komu M, Moller HE, et al. Localized proton NMR spectroscopy in the striatum of patients with Parkinson's disease : a multicentre pilot study. *Magn Reson Med* 1995; 33:589-594
118. Chaudhuri KR, Lemmens GM, Williams SCR, et al. Proton magnetic resonance of the striatum in Parkinson's disease patients with motor response fluctuations. *Parkinsonism Relat Disord* 1996; 2:63-67
119. Simoes F, Ribiero JA, Soares R, Pereira S, Duarte F. In vivo localized proton MR spectroscopy in the striatum of patients with Parkinson's disease. *Mov Disord* 1996;11(suppl 1):178

120. Chaudhuri KR, Ellis CM, Lemmen G, Simmons A, et al. Changes in putamen N-acetylaspartate and choline ratios in untreated and levodopa treated parkinson's disease: a proton magnetic resonance spectroscopy study *Neurology* 1997;49(2):438-44
121. Clarke CE, Lowry M, Horsman A. Normal basal ganglia glutamate and N-acetylaspartate in Parkinson's disease measured by proton resonance spectroscopy. *Mov disord* 1996;11(suppl 1):103
122. Vion Dury J, Meyerhoff DJ, Cozzone PJ, Weiner MW. What might be the impact on neurology of the analysis of brain metabolism by in vivo magnetic resonance spectroscopy? *J Neurol* 1994; 241:345-371
123. Howe FA, Maxwell RJ, Saunders DE, Brown MM, Griffiths JR. Proton Mr spectroscopy in vivo. *Magn Reson Q* 1993; 9:31-59
124. Rinne Jo, Laihinen A, Rinne UK. PET study on striatal dopamine D2 receptor changes during the progression of early Parkinson's disease. *Mov disord* 1993;8:134-138
125. Schwarz J, Tatsch K, Arnold G, et al. 123I-iodobenzamide-SPECT predicts dopaminergic responsiveness in patients with de novo parkinsonism. *Neurology* 1992;42:556-561
126. Oppenheimer DR, Esiri MM. Diseases of the basal ganglia, cerebellum and motor neurons. In: Hume Adam J, Duchen LW, eds. *Greenfield's neuropathology*. 5th. Ed London, Melbourne: Edward Arnold, 1992;988-997
127. Clarke C.E, Lowry M. Systemic review of proton magnetic resonance spectroscopy of the striatum in parkinsonian syndromes *Eur J. of Neurology* 2001;8:573-577
128. Graf W.D, Noetzel M.J. Radical reactions from missing ceruloplasmin, the importance of a ferroxidase as an endogenous antioxidant *Neurology* 1999;53:446-447
129. Gutteridge JMC. Iron and oxygen radicals in brain. *Ann Neurol* 1992;32:16-21

130. Johnson S. Is Parkinson's disease the heterozygote form of Wilson's disease: PD=1/2 WD? Med. Hypoth. 2001;56(2):171-173