

59678

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

PARKİNSON VE ALZHEİMER HASTALARINDA BAZI
ANTIOKSİDAN PARAMETRELERİN SERUMDA
İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. MURAT ÖRMEN

YÖNETEN
PROF. DR. MERAL FADİLOĞLU

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İZMİR - 1997

İÇİNDEKİLER

12

ÖNSÖZ	1
1.GİRİŞ VE AMAÇ	2
2.GENEL BİLGİLER	5
2.1.Yaşlanma	5
2.1.1.Yaşlanmanın Tanımı	5
2.1.2.Yaşlanmada Serbest Radikal Teorisi	5
2.1.3. Yaşlanan Beyinde Oksidatif Süreç ve Antioksidan Defans	
Mekanizmaları	6
2.2. Parkinson Hastalığı	10
2.2.1. Parkinson Hastalığının Tanımı	10
2.2.2. Parkinson Hastalığında Risk Faktörleri	10
2.2.3. Parkinson Hastalığında Oksidatif Stres ve Bunun	
Sonunda Oluşabilecek Değişiklikler	11
2.3. Alzheimer Hastalığı	13
2.3.1. Alzheimer Hastalığının Tanımı	13
2.3.2. Alzheimer Hastalığında Risk Faktörleri	13
2.3.3. Alzheimer Hastalığında Nöropatoloji	14
2.4. Organizmadaki Reaktif Oksijen Metabolitlerinin Kaynakları	16
2.4.1. Reaktif Oksijen Partikülleri	17
2.4.2. Enzimatik Tepkimeler	24
2.4.3. Nonenzimatik Tepkimeler	26
2.5. Reaktif Oksijen Metabolitlerinin Biyolojik Aktiviteleri, Hücreye Olan	
Etkileri	27
2.5.1. Ekstrasellüler Boşluk	28
2.5.2. Biyomembranlar	28
2.5.3. Mitokondri	29
2.5.4. Çekirdek	29
2.5.5. Sitozol	30

2.6. Antioksidan Savunma	30
2.6.1. Doğal Antioksidanlar	30
2.6.2. İlaçlar	33
2.6.3. Oksidatif Stres Markeri Olarak Antioksidanlar	34
3. ARAÇ-GEREÇ VE YÖNTEMLER	36
3.1. Olguların Seçimi ve Örneklerin Toplanması	36
3.2. Kullanılan Araçlar	36
3.3. Kit ve Kimyasal Maddeler	37
3.4. Ölçülen Parametreler ve Prensipleri	38
4. BULGULAR	42
5. TARTIŞMA	52
6. ÖZET	67
7. KAYNAKLAR	69

ÖNSÖZ:

Yetişmemde ve tez çalışmamın yürütülebilmesi için bana her türlü olanağı sağlayan, tezimin her aşamasında yakın ilgi, destek ve katkısı bulunan değerli hocam D.E.Ü.T.F. Biyokimya A.B.D Öğretim Üyesi Prof.Dr. Sn. Meral Fadıloğlu'na, klinik materyelin sağlanmasında ve tezimin yürütülmesindeki destek ve katkıları için D.E.Ü.T.F. Nöroloji A.B.D Öğretim Üyesi Prof.Dr. Sn. Şakir Fadıloğlu'na, eğitimimde emeği olan, artık aramızda bulunmayan ve rahmetle andığımız Anabilim Dalımızın eski başkanı Prof. Dr. Sn. İ.Ruhi Töre'ye, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sn. Banu Önvural'a, Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Sn Hüseyin T. Sessiz'e, Prof. Dr. Sn. Gül Güner'e ve tezime olan katkılarından dolayı Doç. Dr. Sn. Güldal Kırkalı'ya, tez çalışmalarımın yürütülmesi sırasında yardımlarından dolayı Araş. Gör. Sn.Dr.Pınar Akan'a ve Araş. Gör. Sn. Dr. Serra Çolakoğlu'na ve Nöroloji A.B.D Öğretim Üyesi Sn. Dr.Görsev Yener'e ve D.E.Ü.T.F. Biyokimya A.B.D'nin tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca, çalışmalarım boyunca her zaman sevgi ve desteğini yanımda hissettiğim sevgili eşim Dr. Sn. Bahar Örmen'e ve aileme teşekkür ederim.

Dr. Murat Örmen

1- GİRİŞ VE AMAÇ:

Yaşlanma sonucunda beyin dokusunda ve fonksiyonlarında önemli değişiklikler olmakta ve bu değişiklikler organizmanın yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Beyin, yüksek metabolik aktivitesi nedeniyle diğer organlara göre çok daha fazla oksijen kullanmakta ve bunun sonucu olarak daha fazla serbest radikal açığa çıkmaktadır. Yaşa bağlı oluşan önemli değişikliklerden biri olan nöronal doku kaybının bir nedeni; aerobik metabolizmanın doğal sonuçlarından olan toksik serbest radikaller ve bunlara karşı oluşan defans mekanizmalarındaki değişikliklerdir. Bu dengenin bozulması, yapısında doymamış yağ asidini çok miktarda bulunduran beyni serbest radikallere karşı daha hassas kılmaktadır(1) .

Normal yaşlanma sürecinde, respiratuar enzim aktivitelerinde bozulma ve yaşa bağlı hasara ait kanıtlar mevcuttur. Bu durum , geç başlangıçlı ve yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıkların oluşumuna katkıda bulunabilir(2). Alzheimer hastalığı , Parkinson hastalığı , Huntington koresi , Amiyotrofik lateral skleroz gibi nörodejeneratif hastalıklarda, Santral Sinir Sisteminde (SSS) ve organizmanın diğer bölgelerinde makromoleküllerde artmış oksidatif hasar ile ilgili bulgular vardır. Sitotoksisite, oksidatif hasardaki artış ve enerji metabolizmasındaki bozuklukların bu grup hastalıkların etiyolojisindeki yeri giderek artmaktadır. Enerji metabolizmasındaki bozulma, nöronal depolarizasyona, eksitator aminoasit olan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörünün aktivasyonuna öncülük eder ve sonucunda intrasellüler kalsiyumu artırarak fonksiyon kaybına ya da hücrenin ölümüne neden olmaktadır. Mitokondriler hücre içi serbest radikallerin en önemli kaynağıdır ve artmış mitokondrial kalsiyum konsantrasyonları, serbest radikal oluşumunu artırır. Mitokondrial DNA , oksidatif strese özellikle duyarlıdır ve bu olaylardan önemli ölçüde etkilenir (3,4).

Günümüzdeki tedavi yaklaşımlarında; glutamat inhibitörleri , eksitator aminoasit antagonistleri , trofik faktörler , serbest radikal temizleyicileri ve mitokondrial işlevlerin düzeltilmesine yönelik çalışmalar sürmektedir(4,5).

Serbest radikaller; çeşitli çevresel etkenlerle ve dışarıdan alınan çeşitli maddelere bağlı olarak oluştuğu gibi metabolizma sonucu mitokondride oksidatif fosforilasyon süresince kateşolaminlerin otooksidasyonunda, araşidonik asitten tromboksan, prostoglandin ve lökotrienlerin oluşumunda ve yangısal yanıtta makrofaj ve granüositlerde yer alan solunumsal patlama gibi metabolik olaylarda in vivo üretilmektedir (6) .

Dış ortamda ya da organizmanın kendi metabolik işlemleri sırasında sürekli olarak oluşan bu radikallerin her çeşit dokuda hücreleri tahrip ettiği, gen programlarını değiştirdiği gösterilmiştir. Lipid peroksidasyonu sonucu çok doymamış yağ asitlerinin (Poliansature) peroksidatif yıkılım ile oluşan lipid peroksitleri; membranlarda, özellikle membranlar kompleksi olan santral sinir sisteminin myelininde de akışkanlığın azalması, negatif yüzey geriliminde artma, elektriksel stabilite kaybı ve nonspesifik permabilite artması gibi değişimlere yol açar. Membrana bağlı enzimlerin inaktivasyonu, tiol gruplarının oksidasyonuna, iyonik permabilite [AGI]artışına ve mitokondride oksidatif fosforilasyonun bozulmasına neden olur.

Bunun sonucu olarak yaşlanma gibi fizyolojik proseslerde, Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklarda, kanser, reperfüzyon hasarı, ateroskleroz gibi bir dizi patolojik olayda serbest radikallerin ve lipid peroksidasyonun rol oynayıcı faktörler olduğu ortaya konmuştur(7) .

Meydana gelen serbest radikallere karşı oluşturulan antioksidan defans mekanizmaları; enzimlerden : Süperoksid Dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz , vitaminlerden vitamin E (α Tokoferol) ve vitamin C (Askorbat) başlıcalarıdır. Ayrıca; serebrospinal sıvı az miktarda transferrin ve serüloplazmin içerir. Bu bileşikler demir ve bakıra bağlanma özelliğinden dolayı antioksidan olarak görev yaparlar (1) .

Yeni bir gelişme, beyindeki endojen bir hormon olan İndol Melatoninin, antioksidan savunmadaki önemli rolüdür. Bu madde, İnvitro koşullarda, yüksek derecede toksik hidroksil radikallerini temizlemede Glutatyondan, ayrıca peroksil radikallerinin nötralizasyonunda da vitamin E'den daha etkilidir. Bundan başka; beyindeki temel antioksidan enzim olan Glutasyon Peroksidazı da uyarır (1) .

Fizyolojik yaşlanma, Alzheimer ve Parkinson hastalarında, beynin çeşitli bölgelerinde oksidatif olaylar ve antioksidan defans mekanizmalarının değiştiğini gösteren postmortem çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (3).

Alzheimer ve Parkinson hastalığı üzerinde yoğun şekilde sürdürülen klinik ve deneysel çalışmalar çoğunlukla beyin omurilik sıvısı (BOS) veya beyin doku örnekleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Serumda yapılmış çalışmalar ise çok sınırlı kalmıştır. Bunda kuşkusuz Santral Sinir Sisteminde olduğu düşünülen primer patolojinin direkt yansımalarını görmek düşüncesi yatmaktadır. Diğer taraftan günümüzde, farklı dokularda moleküler düzeyde (eritrositler, deri fibroblast kültürleri) yapılan çalışmalarda, nörodejeneratif hastalıkların periferik yansımalarının olabileceğini gösteren sonuçlar elde edilmiştir (8,9).

Bu çalışmada; görülme sıklığı giderek artan ve hem hastaya, hemde çevresine büyük maddi ve manevi kayıplara neden olan Alzheimer ve Parkinson hastaları ile nörolojik ve biyokimyasal olarak normal yaşlı kişilerin serumlarında, bazı antioksidan parametreler üzerinde çalışıldı. Yaşlanma ile ortaya çıkacak olan metabolik değişiklikleri, hastalık sonucu oluşacak değişikliklerden ayırdedebilmek için kendi yaş grubuna uyan yaşlıların serum sonuçlarıyla karşılaştırıldı. Amacımız; primer patolojinin SSS'de oluşturduğu ve oksidatif stresin ortak patofizyolojik etken olarak düşünüldüğü bu hastalıklarda periferde oluşabilecek değişiklikleri inceleyerek klinik tanıyı destekleyici ipuçları verip veremeyeceğini ortaya koymaktır.

Çalışmamızda hastalığın teşhisine, tedavisine, izlenmesine ve diğer dokularda oluşabilecek komplikasyonların giderilmesine ışık tutacağını düşündüğümüz bu parametrelerin, geçmişde kullanılagelen invaziv yöntemler yerine, noninvaziv yöntem olan, aynı zamanda organizmadaki tüm değişikliklerin yansiyabileceğini düşündüğümüz hasta serumunda incelenmesi amaçlandı.

2-GENEL BİLGİLER

2.1. YAŞLANMA:

2.1.1. Yaşlanmanın tanımı:

Organizmanın mental gelişim ve metabolik işlemlerinin sonucu olarak görülen yaşlanma; hem ilerleyen yaşa eşlik eden bir seri değişimden, hem de hastalanma ve ölüm olasılığının giderek artan bir şekilde ilerlemesinden sorumlu olan değişikliklerin toplamıdır. Bu değişikliklerin oluşumunda doğuşsal ve çevresel faktörler etkilidir.

Yaşlanma sürecinin tüm canlılarda varolması, yaşlanma ve ölümün evrensel ve doğal bir olgu olduğunu gösterir.

2.1.2. Yaşlanmada Serbest Radikal Teorisi: Yaşlanmada serbest radikal teorisini destekleyen bulgularla beraber, yaşlanmanın prooksidan oluşumu ve antioksidan savunma sistemleri arasında gittikçe artan bir denge bozukluğu sonucu geliştiğini destekleyen bir dizi çalışma vardır (1,3). Yaşlanmada serbest radikal hipotezinin temel varsayımı; aerobik hücrelerde antioksidan savunma mekanizmalarının yetersizliği ve fizyolojik koşullarda bile rezidüel prooksidanların belirli derecede oksidatif stres oluşturabileceğidir (1). Teorinin öngörüsü bir organizmanın ömür uzunluğunun; rastgele serbest radikal reaksiyonlarının başlama hızının yavaşlatılması ve/veya bu reaksiyonların zincir uzunluklarının azaltılması yoluyla artırılabiliridir.

Antioksidan mekanizmaların yaşam süresine etkilerini incelemek üzere farklı memeli türlerindeki endojen antioksidanların miktarları incelenmiştir. Öncelikle; süperoksid dismutaz (SOD) enzimi üzerindeki çalışmalarda maksimum yaşam süresi ile SOD miktarları arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Memeliler içinde maksimum SOD aktivitesi insanda olmakla birlikte, yaşam süresi en az olan farede en düşük miktardadır.

Maksimum yaşam süresi ile benzer şekilde pozitif korelasyon gösteren antioksidanlar şunlardır: Tokoferol, karotenoidler, ürat ve dokuya özgün olarak askorbik asid... Bu bulgularla paradoks oluşturan bir veri, katalaz, glutatyon, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin maksimum yaşam süresi ile negatif korelasyon içinde olmasıdır. Bir diğer ilginç nokta; oksijen radikallerinin önemli kaynağı olan sitokrom P450 miktarının, memeli türünün yaşam süresi arttıkça azalmasıdır (7).

Günümüzde yaşlanmanın tek bir hipotezden çok multifaktöriyel bir süreç olduğu yolundaki görüşler ağırlık kazanmıştır. Tek başına bir olay ya da işlemin yaşlanmayı kontrol etmesi olası görülmemektedir.

2.1.3 Yaşlanan beyinde oksidatif süreç ve antioksidan defans mekanizmaları:

Yaşa bağlı nöronal doku zedelenmesinin önemli olası nedenlerinden biri; aerobik metabolizmanın doğal sonuçlarından olan toksik serbest radikallerdir. Yüksek metabolik aktivitesi nedeniyle beyin total inspiyum oksijeninin %20'sini kullanır. Oksijenin fazla kullanımını, reaktif oksijen moleküllerinin oluşumu takip eder. Beyin çok doymamış yağ asitlerinden zengin olması nedeniyle, serbest radikallerden diğer dokulara göre daha çok etkilendir (1).

Beyin Omurilik Sıvısı (BOS), serbest radikal oluşumunu katalizleyen demir ve bakır kompleksleri içerir. Ayrıca BOS, az miktarda transferrin ve serüloplazmin de içerir, bu bileşikler demir ve bakırı bağlama özelliğinden dolayı antioksidan özellik gösterirler (10). Nöronal dokular, yüksek konsantrasyonda non-hem demiri içerirler. Serbest demir varlığında askorbik asid antioksidan olarak düşünülse de prooksidan da olabilir. Askorbik asidle yükseltgenmiş demir, reaktif oksijen oluşumunda rol oynamaktadır.

Beynin bazı bölümlerinde bol miktarda bulunan eksitatör nörotransmitterlerin salınımı sonucu, aşırı miktarda serbest radikal oluşturulur. Eksitatör nörotransmitterlerin en önemlisi olan glutamat, santral sinir sistemine düzensiz bir şekilde dağılmıştır ve etkisini glutamat reseptörleri üzerinden göstermektedir. Glutamat reseptörlerinin stimülasyonu, toksik intrasellüler yolların aktivasyonuna neden olur. Sonuç olarak, kinazlar, lipazlar, endonükleazlar, proteazlar ve serbest radikallerin artışı gerçekleşir. Bu bölgede nöronal ölüme kadar ilerleyebilen hasar meydana gelir (1,11).

Antioksidan enzimler, nöronal dokuyu toksik oksijen radikallerinden koruyan temel savunma mekanizmalarıdır. SOD, beyinde süperoksid anyonu ile mücadele ederek, O_2^- 'nin, H_2O_2 'ye dönüşümünü hızlandıran bir enzimdir. Santral sinir sisteminin her tarafında yaygın olarak bulunur. Cu/Zn SOD, beynin total dismutase edici aktivitesinde çok önemlidir. SOD etkinliği, diğer antioksidan enzimlerle (Glutasyon peroksidaz, katalaz...) olan işbirliğine bağlıdır. Bu iki enzim de çeşitli nedenlerle oluşan hidrojen peroksidin metabolizmasında rol alır. Böylece çok toksik olan hidroksil radikali oluşumu engellenmiş olur. Katalaz beyinde yok denecek kadar az aktivite göstermektedir. Glutasyon peroksidaz ise nöronlardan çok glial sitoplazmada olduğu düşünülmesine rağmen, bazı immunositokimyasal bulgular nöronlarda da zayıf glutasyon peroksidaz aktivitesi olduğunu düşündürmektedir. Nöronal dokuda glutasyon peroksidaz aktivitesinin, çok ileri yaşlarda bile pek fazla değişmediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (1).

α -Tokoferol hücre membranının hidrofobik yüzeyine konsantre olmuş lipid solubl antioksidandır. Bu vitamin elektronunu, lipid peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil radikaline aktarmaktadır. Bu şekilde zincir reaksiyonunu engellediğinden, zincir kıran antioksidan olarak adlandırılır. Oluşan E vitamini radikali reaktif değildir. Sonunda ya parçalanır ya da askorbat aracılığı ile tekrar vitamin E'ye dönüştürülür (6). Kronik yağ emilim bozukluğu sonucu görülen vitamin E eksikliğinde, hastaların nörolojik şikayetlerden yakınması ile ilgili gözlemler vitamin E'nin normal beyin fizyolojisindeki önemini göstermektedir. Beynin hem gri hem de beyaz cevherinde çok miktarda vitamin C bulunmaktadır. Koroid pleksusdaki özel bir aktif transport sisteminden dolayı, BOS'da vitamin C konsantrasyonu kandakinin 10 katı kadar olabilir. Ayrıca nöronal hücrelerde, vitamin C'yi daha fazla konsantre etmek üzere, ikinci bir transport sistemi mevcuttur. Askorbat; inaktif vitamin E radikalini yeniden aktif vitamin E'ye dönüşüm döngüsünde bir antioksidan olarak görev alır. Çeşitli nedenlerle nöronal dokudaki demir miktarında artış, lipid peroksidasyonuna bağlı artmış nöronal hasara yol açar. Bu durumdaki artmış serbest radikal oluşumu muhtemelen askorbat-demir etkileşiminin bir sonucudur. Böylece askorbik asid, konsantrasyonlarına ve etkileşimde bulunabildiği diğer bileşenlerin varlığına bağlı olarak beyinde gerek antioksidan gerektiğinde de güçlü bir prooksidan özelliğe sahiptir (1).

Son yıllarda pineal bezde sentezlenen melatoninin (N-asetil-5,metoksi triptamin), kan beyin bariyerini kolayca geçtiği, nöronlar ve glial hücrelerde güçlü antioksidan aktivitede bulunabildiği gösterilmiştir. Melatonin hem OH[•] hem de ROO[•]'nin etkili bir scavengeridir. Ayrıca nükleer DNA'yı, proteinleri, hücre membranındaki lipidleri serbest radikal salınımına karşı etkin bir koruyucu olduğu, zincir reaksiyonlarını kırarak lipid peroksidasyonlarını engellediği gösterilmiştir.

Eksojen olarak verilen melatonin, kan beyin bariyerini kolayca aşarak beyne girer, muhtemelen lipid ve suda çözünebilir özelliğinden dolayı tüm subzellüler kompartmanlarda kolayca dağılır. Bu özelliklerinden dolayı melatonin bilinen eşsiz bir antioksidandır. Ayrıca glutatyon peroksidaz aktivitesini stimüle etmekte, beyinde serbest radikal oluşumuna neden olan nitrik oksidi sentezleyen nitrik oksid sentazı inhibe etmektedir (12).

Melatonin, ilerleyen yaşla birlikte belirgin ölçüde azalması nedeniyle, yaşa bağlı nörodejeneratif koşulların ortaya çıkmasının, kademeli melatonin kaybı ile kısmen ilgili olup olmayacağı tartışılmaktadır.



2.2. PARKİNSON HASTALIĞI:

2.2.1. Parkinson hastalığının tanımı:

Aynı zamanda striatal dopamin eksikliği sendromu olarak bilinen parkinson hastalığı; akinezi, muskuler rijidite, istirahat tremoru, postural anomalilikler ile karakterize santral sinir sisteminin dejeneratif hastalığıdır. Patolojik olarak; en fazla Substantia Nigra'da (SN) olmak üzere pigmente nöronlarda kayıp ve buna eşlik eden eozinofilik inkluzyonlarla (Lewy Body) karakterize bir hastalıktır.

2.2.2. Parkinson hastalığında risk faktörleri:

30 yaşından önce ender olmakla birlikte, ilerleyen yaşla insidansda artış görülmektedir. Yaşlanma ile dopaminerjik nigrostriatal nöronlarda yavaş bir azalma olur. Yapılan bir çok araştırmada parkinson hastalığındaki hücre kaybı paterninin, normal yaşlanmayla olandan farklı olduğu görülmüştür. Beyazlarda, siyahlara oranla daha çok görülmektedir.

1-metil-4-fenil-1,2,5,6 tetrahidropiridin'nin (MPTP) neden olduğu parkinsonien sendromun tanınmasından sonra, kimyasal içeriği benzer olan yeni eksojen ajanların araştırılması önem kazanmıştır (13,14,15, 16). Sigara kullanımı ve radyasyon gibi çevresel faktörlere maruz kalmanın Parkinson hastalığının oluşumunda bir potansiyel oluşturmadığını gösteren çalışmalar mevcuttur.

Yapılan bir çalışmada; parkinson hastalığı için aile öyküsünün bulunması, kafa travması, herbisid kullanımının olması sırasıyla en güçlü risk faktörü olarak gözükmemektedir (16).

Sonuç olarak; parkinson hastalığının oluşumunda bir çok faktör rol oynamaktadır. Parkinson hastalığında oksidatif stres ve antioksidan defans mekanizmalarında değişikliklerin olduğunu gösteren bir çok çalışma vardır; fakat bu mekanizmaların hastalığın nedeni mi, yoksa sonucu mu, olduğu kesinlik kazanmamıştır.

2.2.3. Parkinson hastalığında, oksidatif stres ve bunun sonucuda oluşabilecek değişiklikler:

Nigrostriatal dopaminerjik nöronlar yaş ilerledikçe azalır, parkinson hastalığında bu azalma daha da hızlıdır. Nöron kaybının nedeni kesin olarak bilinmemekle birlikte, artmış oksidatif stresin etken olabileceği ile ilgili bulgular vardır.

Başlangıç döneminde dopaminerjik nöron kaybını kompanse etmek amaçlı dopamin reseptör sayısında artış olsa da, hastalık ilerledikçe reseptör sayısında da azalma görülmektedir. Parkinson hastalığında dopaminerjik nöron harabiyeti sonucu açığa çıkan dopaminin metabolizmasında artış görülür. Bu da hidrojen peroksid üretiminde artmaya, sonuçta oldukça toksik olan hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olur.

Dopamin reseptörleri, bol miktarda çok doymamış yağ asidi içermesi nedeniyle oksidatif strese oldukça duyarlıdır. Membran lipid peroksidasyonu, reseptör yoğunluğunun azalmasına neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonu, reseptör fraksiyonunu indirekt etkileyen fosfolipaz A₂ yolundaki bir değişimle de ilgilidir. Reaktif oksijen türleri, reseptör proteinlerindeki ya da bunlara bağlanmadan sorumlu reseptör sistem faktörlerindeki tiol/disülfid parçaları ile reaksiyona girebilir. (16).

Oksidatif stres, Ca⁺² mobilize edici reseptörler üzerinden hücresel Ca⁺²'da bir dengesizliğe neden olur. Deneysel parkinson modeli oluşumunda kullanılan MPTP, MAO-B tarafında MPP'ye dönüştürülür, ki bu madde de mitokondriyel Ca⁺² homeostazını değiştirerek elektron transportunu engeller. Kalsiyumun hücreye geri alınımını ise demir artırır ve hücrede artan kalsiyum lipid peroksidasyonunu hızlandırır. Bu invitro bulgular sonucunda demire bağlı oksidatif hasarın, kalsiyum kanallarının demir tarafından açılması sonucu, intrasellüler kalsiyum artışı ve mitokondrial kalsiyum salınımına bağlı olduğu gözlenmiştir (15).

Mitokondrilerden kalsiyum atılışının indüklenmesi kalsiyum sirkülasyonunda hızlanma ve enerji kullanımıyla sonuçlanır. Bunun, demirin biriktiği SN glialarında dejenerasyonun başlamasında etken olabileceği düşünülür. Biyosentetik sistemler tarafından kullanılan demiri mitokondrinin aktif olarak içine alması, mitokondriden Ca^{+2} 'nin dışarı atılmasıyla sonuçlanır. Bu işlem hidrojen peroksit formasyonuna bağlı olarak piridin dinükleotidlerinin oksidasyonu yoluyla Ca^{+2} 'un spesifik olarak dışarı atılmasıyla oluşur. Net etki artmış mitokondrial membran lipid peroksidasyonu sonrası mitokondrial elektron transport sistemine peroksidin yapmış olduğu hasardır.

İnsan beyinde dopaminin yıkım yollarından birinde görev alan MAO-B enzim aktivitesi ileri yaşda olasılıkla da glial hücre proliferasyonuna bağlı olarak artar, bu da dopamin konsantrasyonunda azalmaya neden olur. Dopaminin sentez ve yıkımının artışı hidrojen peroksit ve hidroksil radikali oluşumunu artırır. Bu durum tartışma bölümünde ayrıntılı şekilde anlatılmıştır (15).

Parkinson hastalarının beyinde en çok etkilenen bölgelerden biri olan substantia nigranın (SN) zona compactasında (ZC) SOD ve glutatyon peroksidaz aktivitesinde ve redükte glutatyon miktarında azalma, dokuda askorbat ve glutatyon miktarlarında düşme olabileceğini destekleyen kanıtlar mevcuttur (15).

2.3. ALZHEİMER HASTALIĞI:

2.3.1. Alzheimer hastalığının tanımı:

Demans kazanılmış entellektüel fonksiyonlarda gerileme anlamına gelir ve bir hastalığa özgü değildir. 45-65 yaşları arasında nadir görülrken, 65 yaş sonrasında %11'e kadar olabilen görölme sıklığına sahiptir. Tüm demansların %70'i Alzheimer tip demansdır. %15 kadar demans inme sonrası gelişir. Geriye kalan %15'lik bölüm ise çeşitli nörodejeneratif hastalıklar, enfeksiyonlar, vitamin eksiklikleri, endokrin ve metabolik hastalıklar sonucu oluşmaktadır(17).

Alzheimer hastalığında, hafıza ve diğer kognitif işlevlerde sinsi ve progresif bir azalma görölür. Remisyon, hatta duraklama görölmesi enderdir. Yüksek kortikal fonksiyonların kaybolma sırası klinik tanıda önem taşır(18).

2.3.2. Alzheimer hastalığında risk faktörleri:

2.3.2.1. Genetik yatkınlık: Alzheimer patogenezinde önemli olduğu düşünölen amiloid β proteinin senil plakta biriktiği gösterilmiş, bunun öncü maddesinin aminoasit dizisi yapıldıktan sonra sorumlu genin 21. kromozomun uzun koluna lokalize olduğu tespit edilmiştir (19). Ayrıca kromozom 21 trizomili Down sendromlu olgularda Alzheimer hastalığını andıran demans gelişmesi, ve erken yaşda görölen Alzheimer hastalığında 14.kromozom veya 21.kromozomun mutasyonunun bulunması, geç başlangıçlı Alzheimer hastalığında ise; kromozom 19'un uzun kolunda yerleşmiş genin sorumlu tutulması, genetik geçişi düşündüren bulgulardır (20). Genetik görüşü destekleyen diğer bulgular; Apo E alleli taşıyanlarda Alzheimer hastalığı riskinin artması (21), tek yumurta ikizlerinde Alzheimer hastalığı konkordansının %50, çift yumurta ikizlerinde %30 bulunması ve Alzheimer hastalığı olanların birinci derece akrabalarında bu hastalığa yakalanmanın en önemli risk olarak kabul edilmesi sayılabilir (22).

2.3.2.2. Viral enfeksiyonlar: Genetik immun yatkınlığı olan bir kişide otoimmun mekanizmayı uzun süreç içinde etkileyecek pek çok viral enfeksiyon, hem davranış hem de entellektüel bozukluklar oluşturabilir. Ailesel Alzheimer hastalarının beyininden alınan dokunun şempanze beyinlerine enjekte edilerek kronik progressif nörolojik hastalığın oluşturulduğu bildirilmiştir.

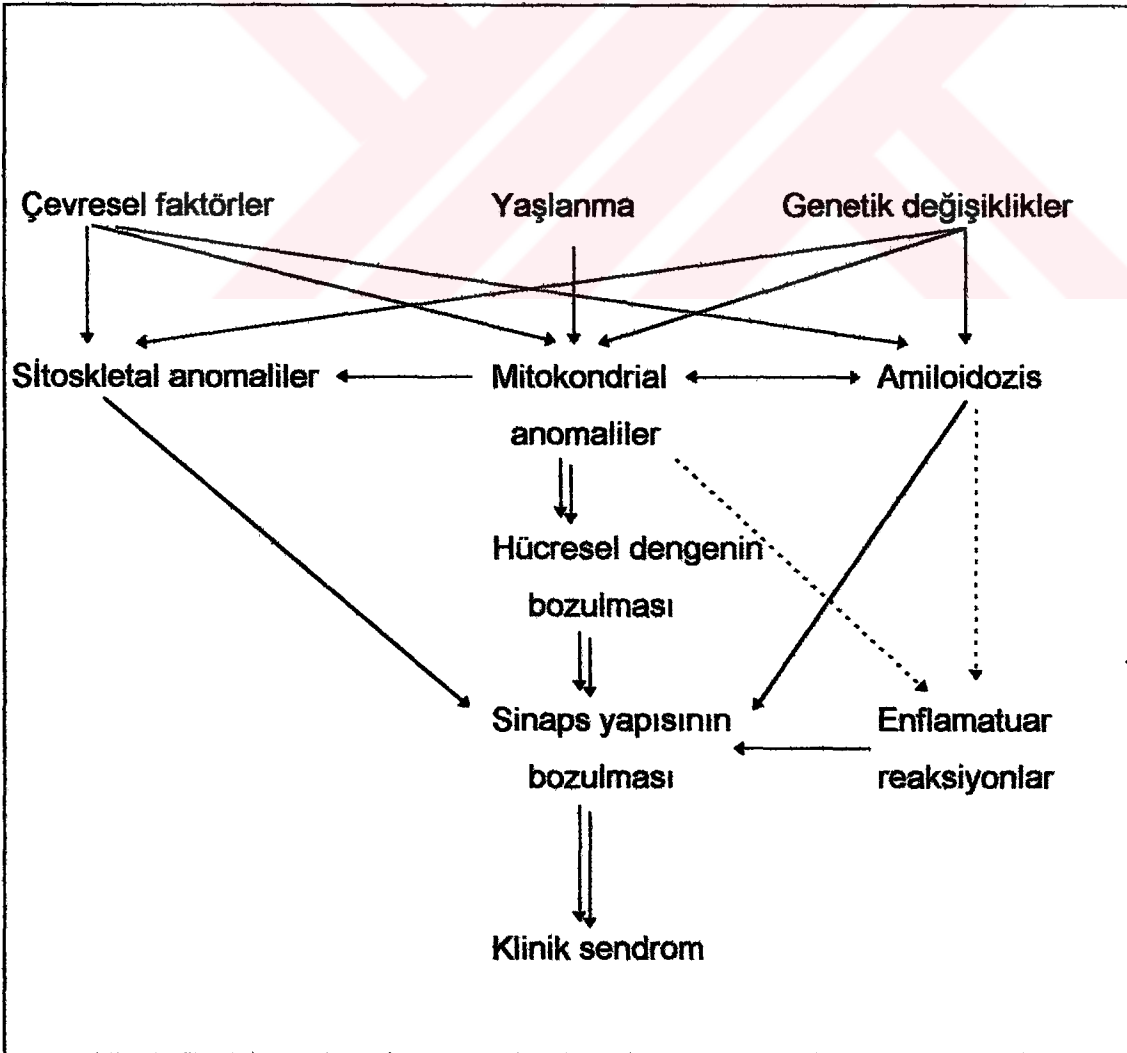
2.3.2.3. Nörotoksik maddeler ve diğer nedenler: Yapılan çalışmalarda Alzheimer hastalarının beyininde normalin 10-30 katı yüksekliğinde alüminyum bulunmuş, buna karşın yüksek alüminyum konsantrasyonu bulunan dializ demanslı hastalarda nörofibriler değişiklikler gözlenmemiştir. Mendez ve ark. yaptığı diğer bir çalışmada kafa travmasının; risk faktörü olmadığını belirtmiştir. Yüksek eğitim düzeyinin ise demans riskini azalttığı gösterilmiştir. Koruyucu bir ajan olarak öne sürülen diğer etken ise sigara kullanımındır (18).

2.3.3. Alzheimer hastalığında nöropatoloji: Beyin ağırlığı azalmıştır ve jeneralize atrofi görülür. Atrofi özellikle; temporal kıvrımlar, hipokampus ve parietal bölgelerde belirgindir. Mikroskopik olarak senil plaklar, nörofibriler yumaklar, seçici nöron kaybı, granülovakuoler dejenerasyon izlenir. Senil plaklar kapiller çevresinde yerleşir. Demans progresyonu ile plak ve yumakların artışı korelasyon gösterir. Nöron kaybı, atrofi ve senil plak sayısı demans şiddeti ile ilişkili bulunmuştur. Alzheimer hastalığının süresi ve ağırlığı ile senil plaklar değil, nörofibriler yumakların ilgili olduğu bildirilmiştir. Nörofibriler yumaklar, immunohistokimyasal yöntemlerle boyanan, tau proteini ve ubiquitin; senil plaklar ise ortadaki amiloid yapının içinde β veya A_4 peptid denen ve amiloid prekürsör proteinden kaynaklandığı düşünülen amiloidimsi protein içerir (18, 23).

Alzheimer hastalığında en büyük nörokimyasal kayıp kolinerjik sisteme aittir. Senil plak ve yumak sayısı ile kolin asetil transferaz düzeyinin azalması arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Ayrıca serotonin, noradrenalin, somatostatin düzeylerinde azalma olmasına karşın dopaminerjik sistem, ileri evredeki hastalar dışında etkilenmez. Oluşan bu değişiklikler presinaptik bölgede olmaktadır.

Alzheimer hastalığının patogenezi henüz kesinlik kazanmamıştır. Bir hipoteze göre, oksijen serbest radikalleri ve hidroperoksidlerin Alzheimer hastalığı patolojisinde rol oynamasıdır. Bu hipotez; diğer dokulara kıyasla beyinde yüksek oksijen tüketim oranı, lipid miktarı ve antioksidan enzimlerin nispeten az olması ile desteklenmektedir. Diğer bir bulgu ise; Alzheimer hastalarının beyininde radikal oluşumunda rol alan demirin yüksek miktarlarda bulunması ile desteklenmektedir (24).

Şekil. 1



2.4. ORGANİZMADAKİ REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİNİN KAYNAKLARI

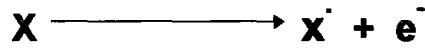
Tek elektrona sahip moleküller, bulabilecekleri herhangi bir molekül ile etkileşime girerek bu molekülden elektron alır veya ona elektron verirler. Başka moleküller ile çok kolay elektron alışverişine girip onların yapısını bozan atom, atom gurubu ya da moleküllere "serbest radikal" denir (7). Organizmadaki olayların normal yürüyebilmesi için serbest radikallerin yan ürün olarak oluştuğu reaksiyonlar gereklidir. Bir çok hücresel enzimin katalitik aktivitesi ve elektron transport işlemleri, ortama serbest radikal üreten elektron transferlerini içerir.

Serbest radikaller üç şekilde oluşabilir:

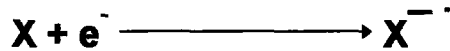
1- Normal bir molekülün kovalan bağının homolitik yarılmaması sonucu eşleşmiş elektronlardan her birinin ayrı parçada kalması.



2- Normal bir molekülde tek bir elektron kaybı.



3- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi.



Organizmada biyolojik sistemlerde varolan moleküler oksijenin çoğu sitokrom sisteminde yeralan aerobik glikolizis sırasında mitokondride, ATP üretmek için tetravalan bir redüksiyona uğrayarak suya redükte olur, ancak bu sistemden kaçan %1-2 oranında moleküler oksijen univalan redüksiyona uğrar. Sonuçta; moleküler oksijen, elektronları sırasıyla alır ve her bir elektron kazanımında bir reaktif ara ürün oluşur; süperoksid radikali, hidrojen radikali, peroksid ve hidroksil radikali... (25)

Elektron transport zincirinden kaynaklanan bu elektron kaçağının yanında peroksizomlarda lokalize olan flavin oksidaz gibi bir dizi enzim de süperoksid anyonu ya da hidrojen peroksid oluşturabilir. Bu otooksidasyon tepkimeleri, geçiş metal iyonlarının ortama eklenmesiyle anlamlı bir şekilde artırılabilir. Biyolojik sistemler için en reaktif ve toksik olan bu radikaller oksijenin toksik etkisinin gerçek nedenini oluştururlar.

2.4.1. REAKTİF OKSİJEN PARTİKÜLLERİ:

Serbest radikal eşleşmemiş tek elektronunu bir başka moleküle vererek onu redükte edebilir ya da bir başka molekülden elektron alıp onu okside ederek yapısında yeni bir elektron çifti oluşturabilir. İki serbest radikalın tepkimesi sonucunda radikal özellik ortadan kalkar; ancak bir radikal, radikal olmayan bir moleküle tepkimeye girerse başka bir radikal oluşur. Radikal özellik taşıyan moleküllerin bu karakteristikleri radikallerin zincir tepkimelerde rol oynamasına neden olur. Bu özellikleri ile reaktif oksijen partikülleri iki başlık altında incelenmektedir (26): (Tablo 1)

1)Radikaller:

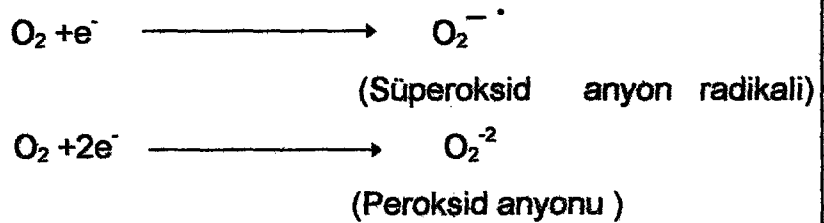
Süperoksid radikali	($O_2^{\cdot -}$)
Hidroksil radikali	(OH^{\cdot})
Peroksil radikali	(LOO^{\cdot})
Alkoksil radikali	(LO^{\cdot})
Semikinon radikali	(HQ^{\cdot})

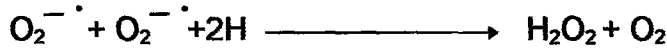
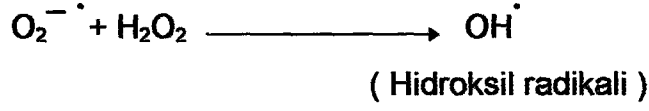
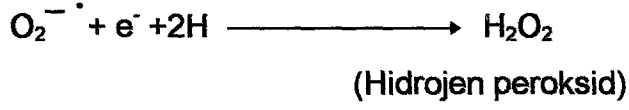
2)Non radikaller:

Hidrojen peroksid	(H ₂ O ₂)
Lipid hidroperoksid	(LOOH)
Hipohalöz asid	(HOX)
N halojenli aminler	(R-NH-X)
Singlet oksijen	(¹ O ₂)
Ozon	(O ₃)
Azot dioksid	(NO ₂)

Tablo. 1: Reaktif Oksijen Partikülleri**2.4.1.1 SÜPEROKSİD RADİKALİ (O₂^{-•})**

Moleküler oksijen dış orbitalde paylaşılmamış iki elektron içermektedir. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilmektedir. Orbitalin tek elektron alması ile süperoksid radikali (O₂^{-•}, süperoksid anyonu), iki elektron alması ile de peroksid anyonu (O₂⁻²) oluşmaktadır. Peroksid anyonu, ortamdaki iki proton alarak hidrojen peroksid (H₂O₂) oluşturabilir; süperoksid anyon radikali ise aldığı elektronu başka elektron alıcısına vererek tekrar oksijene oksitlenebilir. Bunların yanı sıra iki süperoksid anyon radikali birbiri ile etkileşerek biri oksitlenirken diğeri indirgenmekte, böylece H₂O₂ ve O₂ oluşabilmektedir (6):





Diğer radikallerle kıyaslandığında süperoksit radikalinin aktivitesi çok azdır. Süperoksit radikali, oluşumuna neden olduğu diğer radikallerle birlikte organizmada genel bir oksitleyici gibi davranmaktadır. $\text{O}_2^{\cdot -}$, sülfidril gruplarının disülfidlere oksidasyonuna ve ferrik demirin ferröz forma indirgenmesine neden olmaktadır. $\text{O}_2^{\cdot -}$, ferrik formun, ferröz forma indirgenmesini sağlayarak ferritinden demirin direkt olarak ayrılmasına neden olabilir. Ferro iyonu (Fe^{+2}) bir elektronunu lipid peroksidasyonunun yan ürünlerine vererek ek serbest radikal oluşumuna da neden olabilir. Benzer şekilde ADP-Fe^{+2} gibi demirin düşük molekül ağırlığa sahip şelatları oksijen ile reaksiyona girerek çok doymamış yağ asitlerinde direkt olarak lipid peroksidasyonunu başlatacak aktif oksijen türlerini de oluştururlar. Süperoksit anyonu, ayrıca diğer metallerle elektron vererek ya da elektron alarak organizmada fonksiyonel metallerin oksidoredüksiyon düzeyini bozar. Sülfidril gruplarının ve metal iyonlarının canlıdaki sayısız fonksiyonları hatırlandığında, süperoksit radikalinin hücrede metabolik olayları ve oksidoredüksiyon potansiyelini değiştirerek sayısız etkilere neden olacağı açıktır (6).

Normal solunum metabolizması sırasında devamlı olarak oluşan süperoksit anyon radikallerinin girebileceği tepkimeler şunlardır (27):

1) Süperoksit anyon radikalleri süperoksit dismutaz ile dismutasyona uğratarak hidrojen peroksit oluşumuna neden olabilir.



Nötral ya da bazik pH'larda iki süperoksit anyonu arasındaki elektrostatik itme nedeniyle spontan dismutasyon çok yavaş olarak gerçekleşir. Asidik ortamda ise tepkime oldukça hızlıdır.

2) Süperoksit anyon radikalleri ortamdan bir proton alarak perhidroksi radikali oluşturabilir.



3) Süperoksit anyon radikalleri hidrojen peroksit ile tepkimeye girip hidroksil radikali oluşturabilir.



4) Süperoksit anyon radikalleri diaçil peroksitlerde olduğu gibi diğer tepkimeler ile singlet oksijen yapımına da neden olabilir.



2.4.1.2. HİDROKSİL RADİKALİ: (OH[•])

Oksijen radikalleri içinde en reaktif ve en toksik etkili olanı hidroksil radikalidir. Bu radikal membran yapısında yer alan ansatüre yağ asitlerini ve esterlerini peroksidasyona uğratarak lipid peroksidlerin ve endoperoksidlerin oluşumuna neden olmaktadır.

Hidrojen peroksidin, süperoksit anyonu ile reaksiyonu olan Haber-Weise reaksiyonu sonucu hidroksil radikali oluşabileceği gösterilmiştir.

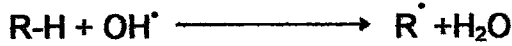


Biyolojik sistemlerde metal varlığında Fenton reaksiyonu sonucu önemli miktarlarda OH[•] radikali üretildiği gösterilmiştir (6).



Hidroksil radikalinin katıldığı tepkimeler üç grupta toplanabilir (27):

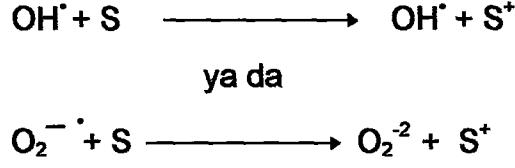
1) Hidroksil radikalinin hidrojen çıkarma tepkimeleri ile bir radikal ve su açığa çıkarır.



2) OH[•], katma tepkimeler ile çift bağ içeren aromatik bileşiklere katılır, aromatik amino asitlerin hidroksilasyonuna ve toksik aldehid oluşumuna neden olur.



3) OH^\cdot , organik ve inorganik bileşiklerde elektron transfer tepkimelerine neden olur ki aynı etkiyi $\text{O}_2^{\cdot-}$ radikali de göstermektedir.



2.4.1.3. HİDROJEN PEROKSİD:(H_2O_2)

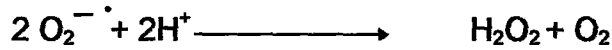
Hidrojen peroksit, oksijen aracılı doku hasarında rol oynayan oksijen metabolitlerinden biridir. Süperoksit anyonlarının dismutasyonu sırasında, ksantin-ksantin oksidaz reaksiyonunda, mitokondrial elektron transportunda ve nötrofillerde üretilir .

Hidrojen peroksit üretim yolları aşağıda belirtilmiştir(27):

1) Oksijenin iki elektron ile redüksiyonu sonucu hidrojen peroksit oluşur.



2) İki süperoksit anyon radikalinin tepkimeye girmesi ile de hidrojen peroksit ve oksijen oluşur.



Hidrojen peroksit okside edici ajan olmasına rağmen spesifik olarak reaktif özellik taşımaz ve önemi; reaktif geçiş elementlerinin varlığında hidroksil radikali için kaynak oluşturmasında yatar. Metal katalistler yokluğunda, hidrojen peroksit ortamdaki uzaklaştırılır ve zararsızdır (6).

2.4.1.4. SİNGLET OKSİJEN:($^1\text{O}_2$)

Enerji absorpsiyonu ile oksijenin paylaşılmamış dış elektronları spinlerini değiştirebilirler. Oksijenin bu şekildeki uyarılmış durumunda, dış iki elektron ayrı ayrı ya da aynı orbitali işgal edebilir. Oksijenin uyarılmış bu iki formuna singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) denmektedir. Singlet oksijen serbest radikal olmamasına rağmen, çok reaktif olması ve üretimi sırasında bazı radikal tepkimeleri oluşturması, bunun sonucunda da DNA hasarı ve mutajenik etkiler yapabilmesi nedeniyle radikal ailesinden sayılmaktadır .

In vivo olarak singlet oksijen üretimine neden olan başlıca tepkimeler şunlardır (28):

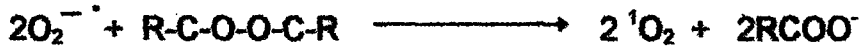
1) Süperoksit anyon radikalinin kendiliğinden dismutasyona uğraması sonucu



2) Haber-Weiss tepkimesi sonucunda singlet oksijen oluşabilir.



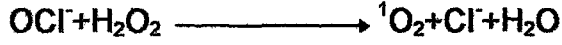
3) Süperoksit radikallerinin diaçil peroksitlerle tepkimesi sonucu da singlet oksijen oluşabilir.



4) Süperoksit anyon ve hidroksil anyon radikalinin etkileşmesi sonucunda singlet oksijen oluşabilir.



5)Fagositoz sırasında myeloperoksidazın hidrojen perokside etkisi ile de singlet oksijen oluşabilir.



Aerobik organizmalarda elektronları her zaman kabul etmeye hazır moleküler oksijenin bol miktarda bulunması, oksijenden türev alan serbest radikallerin, hücrel serbest radikal tepkimelerinin aracı olmasına yolaçmaktadır.

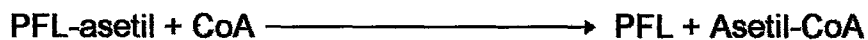
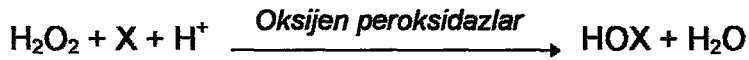
Organizmada serbest radikallerin oluşmasına yol açan tepkimeler iki başlık altında incelenebilir (6,28):

2.4.2. ENZİMATİK TEPKİMELER:



NADPH oksidaz polimorf nüveli lökositler, makrofajlar, monositler gibi inflamatuvar hücrelerin yüzeyinde bulunur ve uygun uyararı (bakteri, mantar) ile karşılaştığında O_2 'yi $\text{O}_2^{\cdot -}$ 'ye çevirir. ("Solunum patlaması")





2.4.3. NONENZİMATİK TEPKİMELELER:

Otooksidasyon tepkimeleri sonucu oluşan reaktif oksijen metabolitlerinin nonenzimatik kaynakları aşağıda özetlenmiştir.



2.5. REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ, HÜCREYE OLAN ETKİLERİ

Serbest radikallerin, aşırı miktarda üretildiği durumlarda çeşitli şekilde metabolik ve hücrel bozukluklar oluşmaktadır. (7)

HEDEF	SONUÇ
Aromatik aminoasitlerin çift bağları ve/veya tiol grubu içeren aminoasitler	Protein denatürasyonu ve çapraz bağların oluşumu, enzim inhibisyonu, hücre membran geçirgenliğinde değişiklik.
Nükleik asid bazları	Baz hidroksilasyonu, hücre döngüsünde değişiklik, mutasyon.
Doymamış lipidler	Kolesterol ve yağ asidi oksidasyonu, lipid çapraz bağ oluşumu, organel ve hücre membran geçirgenliğinde değişiklik.
Kofaktörler	Nikotinamid ve flavin içeren kofaktörlerin miktarında ve aktivitesinde azalma.
Nörotransmitterler	Serotonin ve epinefrin gibi nörotransmitterlerin miktarında ve aktivitesinde azalma.
Antioksidanlar	E vitamini, β karoten, katalaz ve SOD aktivitesinin inhibisyonu olurken glutatyon peroksidaz etkilenmez.
Proteinler	Peptid zincirinde kopma, denatürasyon.
DNA	Zincir kopması, baz değişikliği.
Hyalüronik asid	Synovial sıvı akışkanlığında değişiklik.

Tablo 2: Serbest radikallerin hücrel hedefleri

Radikallerin bu etkileri sonucunda hücre içi ve hücre dışında şu değişiklikler olmaktadır (28):

2.5.1. Ekstrasellüler boşluk: Serbest radikaller hücrenel etkilerinin yanı sıra ekstrasellüler etkilere de yol açar. Hücrenin göstereceği yangısal yanıt ve bunun sonucu oluşan doku hasarının boyutunu belirlemede serbest radikaller önemli rol oynamaktadır.

2.5.2. Biyomembranlar: Hücre membranında bulunan çok doymamış yağ asitleri (PUFA) , peroksidatif hasara karşı çok duyarlıdır. Radikal, yağ asitleri ile birleşerek tepkimeler serisini başlatır. Radikal yağ asidinin oksijenle birleşmesi sonucu lipid peroksid radikali (LOO^{\cdot}) oluşur. Lipid peroksid radikalleri başka yağ asidi yan zincirleri ile tepkimeye girerek lipid hidroperoksidleri ($LOO^{\cdot}H$) oluşturur. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu malondialdehid oluşumuna yol açar. Bu peroksid ürünleri metal iyonları varlığında bazı enzimatik tepkimeler ile etan , pentan gibi yıkım ürünlerinin yanı sıra yaşlanma pigmenti veya lipofussin olarak adlandırılan bileşikler de oluştururlar.

Lipid peroksidasyonu ve kükürt içeren proteinlerin oksidasyonu sonucu membran geçirgenliği ve kırılabilirliği artar . Sonuçta malondialdehid membran bileşiklerinde çapraz bağlanmaya ya da polimerizasyona neden olarak iyon transportu, enzim aktivitesi gibi membran özelliklerinde değişikliğe neden olur. Ayrıca diffüze olabilen malondialdehid DNA'nın nitrojen bazları ile tepkimeye girerek membran enzim aktivitesi azalır ve hücreye Ca^{+2} girişi artar. Hücre içi Ca^{+2} artışı sonucu : Fosfolipaz aktivasyonu ile fosfolipid kaybında artış, membran geçirgenliğinde değişiklik, akışkanlığında azalma, negatif yüzey geriliminde artma, proteaz aktivasyonu, katabolik enzimlerin aktivitesinde artış ve endonükleaz aktivitesi ile DNA kırıkları meydana gelmektedir. Lizozom ve mitokondrinin etkilenmesi ile lizozomal enzim artışı sonucu hücrenel hasar daha da artar.

Reaktif oksijen metabolitlerinin saldırdığı diğer hücresel komponent ; iyonların transportunda ve hücre içi iyonik homeostazda önemli rolleri olan membran proteinleridir. Lipid peroksidasyonu sonucu aldehid ürünleri, kovalan olarak proteinlere ve özellikle lizin artıklarındaki epsilon amino gruplarına bağlanırlar. Serbest radikallerin sülfür içeren moleküller ve doymamış bileşiklerle reaktivitesine bağlı olarak triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasitler içeren proteinler modifikasyona uğrayabilirler.

2.5.3. Mitokondri: Fizyolojik koşullarda mitokondri, oksijeni sitokrom oksidaz sistemi ile suya indirgeyerek detoksifiye etmektedir. Elektron transport zincirindeki pek çok bileşik oksijen ile tepkimeye girerek $O_2^{\cdot -}$ salımına neden olur. " Tek değerli oksijen kaçağı" olarak bilinen bu olay normal koşullarda hücrenin savunma sistemleri ile yok edilebilmektedir. Oksidan stresin fazla olduğu durumlarda, savunma sistemleri yetersiz kalarak mitokondride hasar oluşmasına neden olurlar. Mitokondrial DNA, nükleer DNA'yı koruyan histonlar içermediğinden oksidatif hasara daha duyarlıdır. Mitokondrial DNA'da oluşan mutasyonlar yaşla ilgili dejeneratif hastalıkların gelişimine yolaçarlar. Ayrıca solunum zincirindeki enzimlerde defekte neden olarak hücre ve dokuda enerji açığına, hücresel enerji metabolizmasının yıkılmasına neden olurlar. Sonuç olarak; ATP kullanımında artma, sentezinde azalma (Gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenaz iki -SH gurubunu kaybederek aktivite kaybına uğrar, moleküle NAD bağlanamaz ; ATP sentetaz aktivitesi ve ATP sentezi inhibe olur.)görülür. Hücrede ATP düzeyinde hızla düşme meydana gelir.

2.5.4. Çekirdek: Serbest radikaller, özellikle malondialdehid (MDA), hücre çekirdeğinde DNA ile tepkimeye girmektedir. Nükleik asid yapısındaki baz değişimleri ya da DNA zincir kopması sonucu, kromozomal yapıda oluşan değişiklikler sitotoksisiteye (mutajenik ve karsinojenik) neden olmaktadır.

2.5.5. Sitozol:Sitoplazmada bulunan proteinlerin çoğu ve oksihemoglobin, katalaz gibi hemoproteinler serbest radikallere özellikle duyarlıdır. Antioksidan bir enzim olan süperoksid dismutazın katalitik aktivitesi için gerekli olan histidin kalıntısı da radikallerle bloke edilerek aktivitesi inhibe edilmektedir.

2.6. ANTIOKSIDAN SAVUNMA:

Direkt etki ile oksidanları inaktif hale getiren maddelere "antioksidan" denir. Antioksidanlar, okside edilebilen substrata göre göreceli olarak daha düşük düzeylerde bulunan ve substratın oksidasyonunu anlamlı derecede geciktiren ya da inhibe eden maddelerdir. Tüm antioksidanlar başlıca dört yol ile etkilerini gerçekleştirmektedirler (6,28):

- 1- **Scavenging etki:** Oksidanları tutma ve zayıf moleküle dönüştürme etkisidir. Enzimler bu şekilde etki ederler.
- 2- **Quencher etki:** Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme tepkimesidir. Vitaminler, flavanoidler bu şekilde etki ederler.
- 3- **Onarma etkisi:** Radikaller sonucu oluşturulan oksidatif hasarı onarırlar. Özellikle hücresel antioksidanlar bu şekilde görev yapabilirler.
- 4- **Zincir koparma etkisi:** Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarının önlenmesi etkisidir. Ağır metaller, hemoglobin, serüloplazmin bu yolla etkir eder.

2.6.1. DOĞAL ANTIOKSIDANLAR

2.6.1.1. Enzimler:

****Süperoksid dismutaz;** Süperoksidin, hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzim olup, 21. Kromozomda lokalize olmuştur.



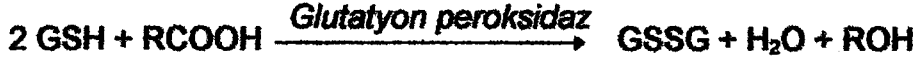
Süperoksit dismutazın farklı şekilleri bulunmaktadır. Bunlardan biri ökaryotik hücrelerin sitozolünde (Zn^{++} - Cu^{++} SOD) ve mitokondrinin intermembran aralığında (Mn^{++} SOD) bulunur. Molekül kütlesi 31200 Da olan Zn^{++} - Cu^{++} SOD, her bir dimerik protein için birer molekül bakır ve çinko içerir. Çinkonun stabiliteyi sağladığı, bakırın ise aktiviteden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Çinko irreversibl olarak ayrılır , bakır ise ayrılıp tekrar bağlanabilir.

Mn-SOD kalp, karaciğer ve böbrekte en yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Cu-Zn SOD ise; karaciğer, beyin ve testiste en yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Cu-Zn SOD siyanür ile inhibe olurken, Mn-SOD siyanür ile inhibe olmaz. Ayrıca E.Coli'nin periplazmik aralığında yer alan, demir içeren SOD şekli bulunmaktadır. Molekül kütlesi 40.000 Da olan bu enzim yapısal olarak Mn-SOD'la büyük benzerlikler göstermektedir (25,28).

****Katalaz;** Yapısal olarak bir hemoproteindir. Molekül kütlesi 248.000 Da olup, non kovalan bağlı protoporfirin IX Fe (hem) içerir. Eritrositler, kemik iliği, karaciğer, mukoz membran ve böbrekte yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Katalaz; düşük hızlarda hidrojen peroksidin olduğu durumlarda ya da yüksek elektron alıcısı konsantrasyonlarının bulunduğu ortamlarda peroksidatif tepkimeyle (Tepkime 1), hidrojen peroksid oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle (Tepkime 2) hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırırlar (28).



****Glutasyon peroksidaz;** Aktif bölgesinde bir selenosistein yapısı içeren ve indirgenmiş glutasyonu oksitleyerek hidrojen peroksid ve organik hidroperoksidlerin redüksiyonunu katalizleyen bir enzimdir.



****Glutasyon redüktaz;** NADPH varlığında okside glutasyonun indirgenmesini katalizler.



****Hidroperoksidaz;**

****Sitokrom c oksidaz;** Hücredeki oksijenin %95'ini detoksifiye eder (28).

2.6.1.2. Nonenzimatik antioksidanlar:

Serüloplazmin; demiri okside eder.

Ferritin; Organizmada demiri depolar. Demirin radikal reaksiyonlarını uyarmasını engeller.

Transferrin; dolaşımdaki demiri bağlar.

Hemoglobin; oksidanları bağlar.

E vitamini ve analogları; lipid peroksidasyon zincirini kırarlar.

C vitamini; süperoksid ve hidroksil radikallerini direkt olarak tutar, E vitaminini rejenere eder.

Tiyol içerenler (glutasyon, N asetil sistein, metionin); serbest radikal ve HOCl tutucusudur.

A vitamini; direkt olarak peroksilere etki eder.

Ürik asid; süperoksid, hidroksil radikali ve peroksil tutucusudur.

Sistein; süperoksid ve hidroksil radikali tutucusudur.

Ubikinon; serbest radikal tutucusudur.

Glukoz; hidroksil radikal tutucusudur.

Bilirubin; süperoksid ve hidroksil radikal tutucusudur.

Albumin; bakırı bağlar, LOOH ve HOCl tutucusudur.

Piruvat; hidrojen peroksid tutucusudur.

Haptoglobülin; hemoglobini bağlar.

Hemopeksin; serbest hem grubunu bağlar (6,28,29,30).

2.6.2. İLAÇLAR:

Ebselen; endojen glutasyon peroksidaz aktivitesini artırır.

Demir selatörleri; deferroksamin, dimetil tioüre.

Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol); ksantin oksidaz tarafından süperoksid anyon üretimini inhibe ederler.

Proteaz inhibitörleri; serin proteaz inhibitörleri, fenilmetilsülfonil florid; ksantin oksidazın ksantin dehidrogenaza dönüşümünü bloke ederler.

NADPH oksidaz inhibitörleri; lokal anestezikler, Ca²⁺ kanal blokerleri, nonsteroidal antienflamatuar ajanlar; nötrofil ve makrofajlardaki NADPH oksidaz üretimini inhibe ederler.

Mannitol; hidroksil radikalini tutar.

Barbituratlar, Flavanoidler, Trimetazin, İndepamid, H₂ reseptör blokerleri antioksidan özellik taşımaktadırlar (28).

2.6.3. OKSİDATİF STRES MARKERİ OLARAK ANTIOKSİDANLAR:

Antioksidanlar: Metal iyonlarını, oksijeni ve süperoksid, hidrojen peroksid gibi reaktif oksijen partiküllerini uzaklaştırır. Hidroksil, alkoksil, peroksil gibi zincir reaksiyonlarını başlatan serbest radikalleri ve siglet oksijeni temizler, başlamış olan zincir reaksiyonunu kırarak görev yaparlar. Antioksidanları organizmadaki görevlerine göre iki grupta inceleyebiliriz (6,31):

2.6.3.1. Hücre içi Antioksidanlar:

Süperoksid dismütaz (Cu-Zn,Mn)	Katalitik olarak oksijeni uzaklaştırır
Katalaz; 4 NADPH molekülü içerir(Fe)	Yüksek konsantrasyonlardaki H ₂ O ₂ 'yi uzaklaştırır.
Glutasyon Peroksidaz (Se)	Düşük konsantrasyonlardaki H ₂ O ₂ 'yi ve organik hidroperoksidleri uzaklaştırır.
Sitokrom oksidaz (Cu)	Katalitik olarak oksijen toksisitesini engeller.

Tablo.3

2.6.3.2. Membran antioksidanları:

Vitamin E	Lipidde çözünebilir, lipid peroksidasyonunda zincir kırıcı özelliğe sahiptir.
β Karoten (A vitamini)	Lipidde çözünebilir, radikal temizleyicidir ve singlet oksijenin etkilerini engeller.
Koenzim Q	Enerji metabolizmasında major rol alır, antioksidan özellik gösterebilir.
Membran yapısının organizasyonu	Fosfolipid ve serbest yağ asitleri, vit E, vit A membran bütünlüğünde önemlidir.

Tablo.4

2.6.3.3. Hücre dışı antioksidanlar:

Extracellüler SOD	Katalitik olarak oksijeni uzaklaştırır.
Extracellüler Glutasyon peroksidaz	Katalitik olarak hidrojen peroksid ve hidroperoksidleri uzaklaştırır.
Transferrin	Fe ⁺³ e bağlanır.
Laktoferrin	Düşük pH'da Fe ⁺³ e bağlanır.
Haptoglobülin	Hemoglobine bağlanır.
Hemopeksin	Hem'e bağlanır.
Albumin	Bakır ve heme bağlanır, HOCl'yi uzaklaştırır.
Serüloplazmin	Ferroksidaz aktivitesine sahiptir, süperoksid radikali ve hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasını sağlar.
Bilirubin < 0.09µmol/L	Peroksil radikallerini temizler
Mukus	Hidroksil radikalini temizler
Ürat (0.08µmol/L)	Radikalleri temizler ve metallere etkir.
Glukoz (4-6µmol/L)	Hidroksil radikallerini temizler
Askorbik asid (65µmol/L)	Hidroksil radikallerini temizler

Tablo.5

3- ARAÇ - GEREÇ VE YÖNTEMLER:

3.1. Olguların seçimi ve örneklerin toplanması:

Yaklaşık birbuçuk yıl süren çalışma, DEÜTF Nöroloji Anabilim Dalı demans polikliniğine başvuran, 32 Parkinson hastalığı, 23 Alzheimer hastalığı tanısı konan hastalarda gerçekleştirildi. Parkinson grubunun seçiminde; klinik olarak parkinson bulguları olan hastaları semptomatik parkinsonizmi olan hastalardan ayırtedebilmek için Nöroloji A.B.D. Demans Polikliniğince yardımcı inceleme yöntemleri uygulandı. Bu testlerin sonucuna göre hastalar idiopatik parkinson olanlar ve diğerleri şeklinde gruplandı. İdiopatik parkinson tanısı alan grup çalışmaya dahil edildi. Alzheimer demans grubunun seçiminde ise DSM IV kriterlerine göre demans tanısı konan hastaların NINCDS-ADRDA kriterlerine göre değerlendirilerek Alzheimer tanısı kondu. Kontrol grubu olarak, nörolojik ve biokimyasal patolojisi bulunmayan, 18 sağlıklı bireyden seçildi. Yaş ortalaması: Parkinson grubunun 66, Alzheimer grubunun 70, kontrol grubunun 64 idi. Erkek / kadın oranı: Parkinson grubunda 20/12, Alzheimer grubunda 10/13, kontrol grubunda 9/9 idi.

Hasta ve kontrol gruplarında; açlık serum SOD, glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri ile bakır, çinko, serüloplazmin, ferritin, R-SH, düzeyleri saptandı. Elde edilen değerler tablo 6,7,8 de gösterilmektedir.

3.2. Kullanılan araçlar:

Cihaz	Model	Marka
Benmari		Kotterman
Derin dondurucu	Sepatech	Heraeus
EIA analizör	ES-300	Boehringer
Hassas terazi	EB-330 H	Shimadzu
Nefelometri	Array protein system	Beckman
Spektrofotometre	V-550 UV / VIS	JASCO
Soğutmalı santrifüj	2.0 RS	Heraeus
pH-metre	710 A	Orion
Vorteks	Tip 37600	Thermolyne

3.3. Kullanılan kit ve kimyasal maddeler:

Kitler:**Test:**

Bakır

Çinko

Serüloplazmin

Ferritin

Glutatyon peroksidaz

Süperoksid dismutaz

Kimyasal maddeler:

RS-H (total sülfidril grupları için):

 K_2HPO_4

DTNB : 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoik asit)

Tris (Hidroksimetil) aminometan

EDTA : Etilendiamin tetra asetik asit

SDS : Sodyum dodesil sulfat

Marka:

Merck

Randoks

Beckman

Boehringer

Randox

Randox

Marka:

Merck

Sigma

Sigma

Sigma

Sigma

3.4. Ölçülen parametreler ve prensipleri:

Çinko Analiz Yöntemi:

Serum çinko analizi, "Randox" kiti kullanılarak spektrofotometrik olarak değerlendirildi.

Çinko ölçüm prensibi: Triklorasetik asit ile deproteinizasyon işleminden sonra, örnekteki çinkonun, 5-Br- PAPS {2-(5-bromo-2-pyridilazo) -5-(N-propil-N sulfopropilaminol)-fenol } ile oluşturduğu kompleksin 560nm'de absorpsiyon değeri spektrofotometrik olarak ölçülerek değerlendirildi.

Çinko analizinde kullanılan ayırıcılar:

1- Deproteinizasyon solusyonu

Triklorasetik asit 370 mmol/L

2- Renk reaktifi A: pH9.75

Sodyum bikarbonat 200 mmol/L

Trisodyum sitrat 170 mmol/L

Dimetilgliksim 4 mmol/L

5-Br-PAPS 0.08 mmol/L

Triton-X 100

3- Renk reaktifi B:

Salisilodoksin pH3.0, 29 mmol/L

4- Standart 30.6 μ mol/L (200 μ mol/L)

Bakır Analiz Yöntemi:

Serum bakır, "Merckotest" kiti kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlendi.

Bakır ölçüm prensibi: Bakır, serumda protein ile kompleks halindedir. Hidroklorik asit ile deproteinizasyon sonucunda bakır redükte forma dönüştürüldü, daha sonra spesifik bakır reaktifi (bathocuproindisulfonic acid) ile oluşan renk değişimi 460nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek değerlendirildi.

Bakır analizinde kullanılan ayıraçlar:

- 1-Redüksiyon çözeltisi: 1mol/L HCL, 90mmol /L hidokinon
- 2-%20 Triklorasetik asid
- 3-Renk reaktifi:(0.9 mmol/L bathocuproindisulfonic acid disodium salt, 3mmol/L amonyum asetat)
- 4-Bakır standartı: (0.2 mg/dl)

Ferritin Analiz Yöntemi:

Ferritin, Enzim Immunassay yöntemi (EIA) ile "Boehringer Mannheim" kiti ile ölçüldü.

Ferritin ölçüm prensibi: Streptavidin kaplı reaksiyon tüplerine örnekler ve içinde anti-ferritin bulunan inkübasyon solüsyonu ilave edildi. Streptavidin, ferritin, anti-ferritin tüp içinde reaksiyona girmesi için inkübe edildi ve reaksiyonun gerçekleştirildiği tüp boşaltıldı. Tüpe substrat ve kromojen solusyonu eklenerek streptavidin, ferritin, anti-ferritin ile verdiği reaksiyon 422nm'de ölçüldü. Bu işlemler ES-300'de otomatize olarak gerçekleştirildi.

Serüloplazmin Analiz Yöntemi:

Serüloplazmin, immunokimyasal yöntem kullanılarak Beckman Protein Array System cihazında aynı marka kit ile ölçüldü.

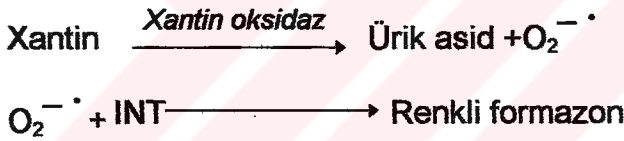
Serüloplazmin ölçüm prensibi: İnsan serüloplazminine karşı oluşturulmuş antikörlerin örnekteki serüloplazmin antijenleri ile oluşturduğu reaksiyonun saçılımı sonucu oluşan değişiklik nefelometrik olarak değerlendirildi.

Süperoksid Dismutaz Analiz Yöntemi:

SOD, Randoks kiti kullanılarak spektrofotometrik olarak değerlendirildi.

SOD ölçümü prensibi: Substrat olarak kullanılan ksantin, ksantin oksidaz enzimi aracılığı ile oksijen radikali oluşturulması sağlandı. Oluşan radikal, yine substrat içinde bulunan I.N.T. { 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolium klorid} ile reaksiyona girerek renkli formazon oluşturur. Renkli formazon oluşumu, SOD ile engellendiği için, ortamdaki SOD aktivitesi ile ters orantılıdır. Oluşan renk 505nm'de kinetik olarak değerlendirildi. Standartlar; 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 dilüsyonlarda hazırlandı. Absorbans , konsantrasyon eğrisi çizildi. Örnekler bu eğriye göre değerlendirildi.

Ortamda SOD enzimi bulunduğunda oluşan oksijen radikali, enzim aktivitesinin düzeyine göre, değişen boyutlarda renkli formazon oluşumunun engellenmesi, yüzde inhibisyon şeklinde ölçülerek değerlendirildi.



SOD analizinde kullanılan ayıraçlar:

1-Substrat karışımı:

Ksantin	0.05 mmol/L
I.N.T	0.025 mmol/L

2-Tampon çözelti:

CAPS	50 mmol/L, pH 10.2
EDTA	0.94 mmol/L

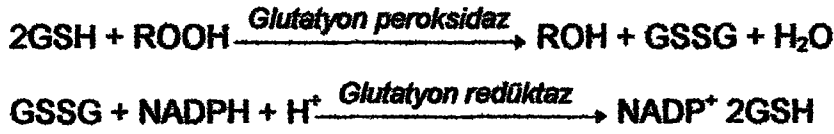
3- Ksantin Oksidaz 80 U/L

4- Standart 5.8 U/ml

5-Diluent: Fosfat tampon 0.01mol, pH 7.0

Glutasyon Peroksidaz Analiz Yöntemi:

Glutasyon peroksidaz ölçüm prensibi: Glutasyonun, cumene hidroperoksid ile birlikte, glutasyon peroksidaz enzimi aracılığı ile okside glutasyon oluşur. Bu bileşik, NADPH'ı kullanan, glutasyon redüktaz enzimi varlığında NADP⁺ ve redükte glutasyona dönüşür. Bu reaksiyonda, NADPH - NADP⁺ azalan absorbans değişikliği 340nm'de ölçülerek değerlendirildi.



Glutasyon peroksidaz analizinde kullanılan ayıraçlar:

- | | |
|-------------------------|--------------------|
| 1- Glutasyon | 4 mmol/L |
| Glutasyon Reduktaz | > 0.5 U/L |
| NADPH | 0.28 mmol/L |
| 2- Tampon Çözelti: | |
| Fosfat tampon | 0.05 mol/L; pH 7.2 |
| EDTA | 4.3 mmol/L |
| 3- Cumene Hidroperoksid | 0.18 mmol/L |
| 4- Dilusyon Solusyonu | |

R-SH yöntem ve prensibi:

Serum total sülfidril gruplarının, Tris/SDS/EDTA ile karıştırılarak oksidasyonu engellenir. Karışıma DTNB; 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoik asit) eklenip 37°C'de 20dakika inkube edilir. RS-H'ın RSSR'ye, DTNB'nin de TNB'ye (tiyonitrobenzoik asit) dönüşümü gerçekleşir. Oluşan TNB'nin 412 nm'de meydana getirdiği absorbans değişikliğinden RS-H miktarı hesaplanır (32).

4. BULGULAR:

Tablo 6 : Parkinson hasta grubunda sırasıyla; yaş, serum bakır , çinko, serüloplazmin, ferritin, SOD, glutasyon peroksidaz, RS-H düzeyleri:

PARK	CİNSİYET K / E	YAŞ	BAKIR µg/dl	ÇİNKO µg/dl	SER. mg/dl	FER. µg/L	SOD % inhib.	GPX U/L	RS-H mg/dl
1.	ERKEK	56	104	90	28.0	83.00	43.82	9635	94.57
2.	ERKEK	64	112	44	33.3	84.00	46.56	4510	110.52
3.	KADIN	70	129	131	44.8	27.00	57.52	5248	112.72
4.	KADIN	70	117	76	44.8	73.00	47.93	7626	110.73
5.	ERKEK	71	129	70	60.9	40.00	60.26	6396	103.78
6.	ERKEK	66	138	35	39.6	153.00	56.15	9430	95.84
7.	ERKEK	60	109	88	43.8	212.00	58.90	6176	112.58
8.	KADIN	68	124	104	39.4	58.70	43.82	5538	93.36
9.	KADIN	64	122	87	28.3	365.00	72.59	6027	111.30
10.	KADIN	69	118	222	34.5	55.30	46.56	6765	116.19
11.	KADIN	67	161	138	50.5	133.28	47.93	6437	192.40
12.	KADIN	50	146	59	41.2	23.00	83.50	8077	107.33
13.	ERKEK	71	132	77	39.7	60.00	75.33	5658	101.73
14.	ERKEK	71	116	38	31.3	27.00	72.59	5986	92.02
15.	ERKEK	60	113	91	32.5	73.97	39.71	6232	102.51
16.	KADIN	60	138	91	39.5	42.02	47.93	5740	104.42
17.	KADIN	72	157	98	49.5	67.13	39.71	4469	93.86
18.	ERKEK	83	125	56	38.0	41.33	47.90	4879	101.73
19.	KADIN	66	141	61	46.2	59.11	46.56	5002	91.66
20.	ERKEK	62	148	83	32.6	640.00	32.86	4797	135.19
21.	ERKEK	66	113	60	31.3	173.91	60.26	5248	138.82
22.	ERKEK	70	129	132	39.2	61.72	39.70	5866	109.39
23.	ERKEK	70	131	84	39.7	2.16	50.67	6683	92.51
24.	ERKEK	75	96	98	28.3	75.56	43.82	7831	151.14
25.	KADIN	70	148	90	48.4	81.57	56.15	6683	113.92
26.	ERKEK	45	120	89	35.3	167.77	47.93	4756	120.30
27.	ERKEK	61	92	60	28.5	53.00	68.48	5863	85.42
28.	ERKEK	57	109	151	28.1	122.79	45.19	6232	110.59
29.	KADIN	72	134	92	41.0	194.65	58.89	6174	104.14
30.	ERKEK	70	125	107	39.5	92.64	54.11	6150	103.71
31.	ERKEK	82	126	89	31.3	129.45	42.45	6174	91.66
32.	ERKEK	62	136	67	34.0	679.72	53.41	5371	94.21

Tablo 7: Alzheimer hasta grubunda sırasıyla; yaş, serum bakır , çinko, serüloplazmin, ferritin, SOD, glutatyon peroksidaz, RS-H düzeyleri:

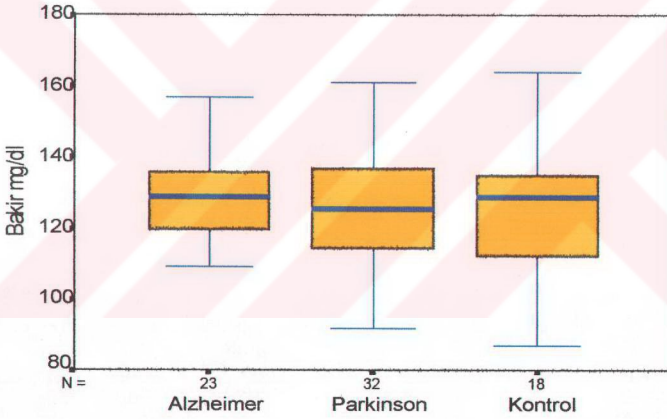
ALZH.	CİNSİYET K / E	YAŞ	BAKIR µg/dl	ÇİNKO µg/dl	SER. mg/dl	FER. µg/L	SOD % inhib.	GPX U/L	RS-H mg/dl
1.	KADIN	65	143	47	45.4	98.00	79.40	11152	104.21
2.	KADIN	70	132	92	37.6	100.00	49.30	8733	75.00
3.	ERKEK	78	148	102	45.2	23.00	30.12	4182	113.36
4.	KADIN	70	129	59	48.0	66.00	60.10	9389	114.77
5.	KADIN	61	121	91	42.6	104.00	54.78	6560	105.20
6.	KADIN	76	141	36	65.2	76.00	52.65	8323	131.93
7.	ERKEK	72	127	101	32.1	160.00	39.71	4387	89.53
8.	ERKEK	78	136	62	49.0	48.00	86.29	5617	96.84
9.	KADIN	61	124	195	35.3	121.00	52.65	6478	103.36
10.	ERKEK	66	111	154	32.8	51.49	52.04	7011	100.10
11.	KADIN	59	109	89	35.4	20.60	67.10	5658	132.07
12.	KADIN	74	127	85	36.1	87.62	67.10	6765	95.56
13.	ERKEK	72	116	111	36.0	146.97	58.90	6560	112.08
14.	ERKEK	70	136	75	44.6	93.54	53.40	4756	77.84
15.	ERKEK	69	118	72	34.4	31.91	71.20	6560	113.64
16.	ERKEK	72	131	102	34.4	86.60	60.10	6766	104.44
17.	KADIN	61	113	72	40.9	12.48	46.50	7380	97.69
18.	ERKEK	65	111	88	32.0	40.30	68.48	6765	107.97
19.	KADIN	74	157	212	50.3	283.18	58.90	5521	108.89
20.	KADIN	70	139	112	45.1	59.63	41.08	6766	88.19
21.	KADIN	74	127	104	41.2	58.76	28.75	6560	112.01
22.	KADIN	77	129	107	40.8	167.18	67.11	6683	138.59
23.	ERKEK	78	131	100	42.1	23.00	63.00	6229	140.58

Tablo 8: Kontrol yaşı grubunda sırasıyla; yaş, serum bakır , çinko, serüloplazmin, ferritin, SOD, glutatyon peroksidaz, RS-H düzeyleri:

KONT.	CİNSİYET	YAŞ	BAKIR µg/dl	ÇİNKO µg/dl	SER. mg/dl	FER. µg/L	SOD % inhib.	GPX U/L	RS-H mg/dl
1.	ERKEK	68	129	108	39.2	9.69	65.74	3485	108.86
2.	KADIN	60	131	117	39.7	110.78	53.40	7544	114.99
3.	ERKEK	59	112	158	33.4	80.51	65.74	6601	117.11
4.	KADIN	62	135	104	42.7	12.48	45.19	7708	113.50
5.	ERKEK	67	87	119	21.9	71.69	86.29	6519	118.53
6.	ERKEK	64	105	149	30.1	88.16	60.26	7954	119.38
7.	KADIN	66	109	103	36.1	92.28	41.08	6519	114.56
8.	ERKEK	59	130	109	40.5	439.16	75.33	7093	135.90
9.	KADIN	66	162	119	56.8	123.72	78.07	7093	96.55
10.	ERKEK	66	164	168	51.0	230.40	78.07	8036	119.52
11.	KADIN	61	146	127	54.1	63.11	79.44	4100	153.98
12.	KADIN	62	129	88	39.3	46.66	68.45	8856	133.35
13.	ERKEK	60	113	39	31.9	102.03	58.90	4223	119.95
14.	ERKEK	60	134	79	42.6	32.25	60.26	7954	114.56
15.	KADIN	65	145	67	59.0	27.46	82.19	6229	132.14
16.	ERKEK	77	107	62	29.6	79.98	65.74	5125	118.53
17.	KADIN	74	126	68	39.4	66.00	60.10	9184	100.10
18.	KADIN	55	119	114	34.9	142.00	43.82	6150	101.80

Alzheimer, parkinson hastalığı ve kontrol grubunda çalışılan parametreler, Mann - Whitney U testi ile istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı hesaplandı. Sonuçlar box-plot grafiği ile gösterildi. Buna göre kutunun alt sınırı 25. persentil, üst sınırı 75. persentili, kutunun içindeki yatay çizgi ortancayı temsil eder. Kutunun yüksekliği çeyrekler arası aralığa karşılık gelmektedir. Kutuların alt ve üst kenarlarının ortasından çizilen dikey çizgiler, yani alt ya da üst kenarlar uzaklığı 1.5 kutu boyundan az olan en büyük ve en küçük değerlere kadar uzanmaktadır. Karşılaştırılan gruplar ve "p" değerleri tablonun altında belirtilmiştir, $p < 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir (33).

Tablo 9: Bakır düzeylerinin örneklere göre dağılımı



Ortalama değeri; $\mu\text{g/dl}$

"p" değeri

Alzheimer hastalığı = 128.5217

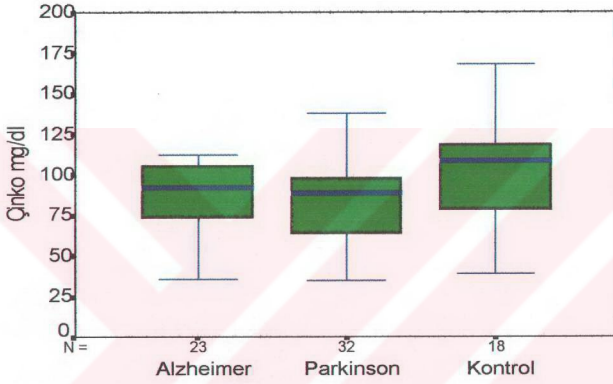
Alzheimer - Parkinson = 0.4841

Parkinson hastalığı = 126.1875

Alzheimer - Kontrol = 0.6933

Kontrol grubu = 126.8333

Parkinson - Kontrol = 0.9436

Tablo 10: Çinko düzeylerinin örneklere göre dağılımı

Ortalama değeri; µg/dl

"p" değeri

Alzheimer hastalığı = 98.6087

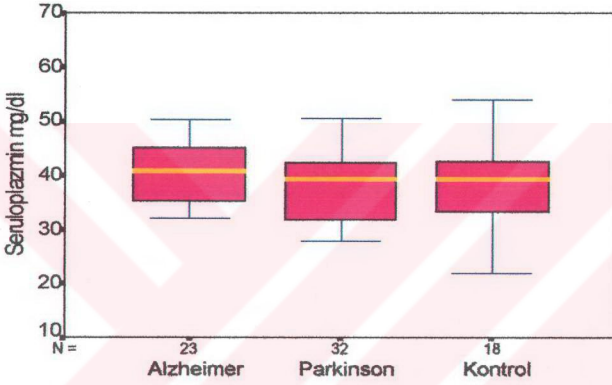
Alzheimer - Parkinson = 0.2493

Parkinson hastalığı = 89.3125

Alzheimer - Kontrol = 0.1760

Kontrol grubu = 105.4444

Parkinson - Kontrol = 0.0465

Tablo.11: Serüloplazmin düzeylerinin örneklere göre dağılımı

Ortalama değeri; mg/dl

"p" değeri

Alzheimer hastalığı = 41.1522

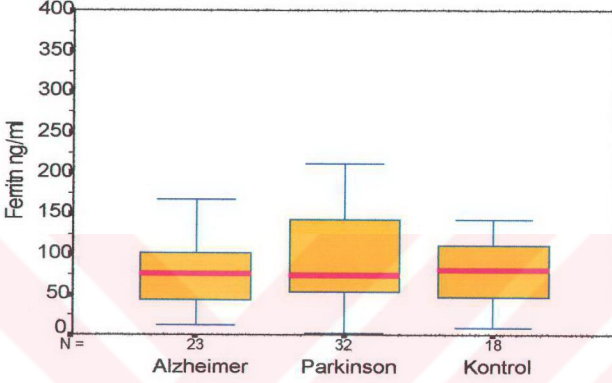
Parkinson hastalığı = 38.2187

Kontrol grubu = 40.1222

Alzheimer - Parkinson = 0.1164

Alzheimer - Kontrol = 0.5456

Parkinson - Kontrol = 0.5308

Tablo. 12: Ferritin düzeylerinin örneklere göre dağılımı**Ortalama değeri; ng/ml****"p" değeri**

Alzheimer hastalığı = 85.1852

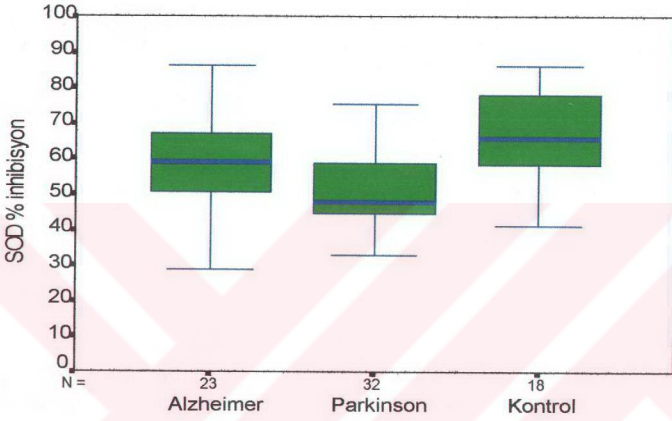
Alzheimer - Parkinson = 0.4841

Parkinson hastalığı = 129.7462

Alzheimer - Kontrol = 0.7928

Kontrol grubu = 101.0200

Parkinson - Kontrol = 0.8398

Tablo.13: SOD düzeylerinin örneklere göre dağılımı

Ortalama değeri; % inhibisyon

“p” değeri

Alzheimer hastalığı = 56.8983

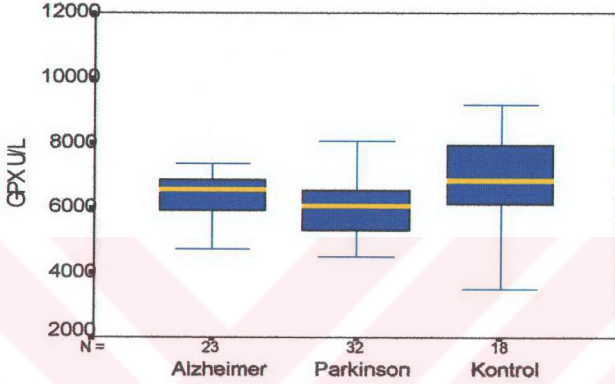
Alzheimer - Parkinson = 0.1590

Parkinson hastalığı = 52.7872

Alzheimer - Kontrol = 0.0851

Kontrol grubu = 64.8700

Parkinson - Kontrol = 0.0037

Tablo.14 :GPX düzeylerinin örneklere göre dağılımı

Ortalama değeri; U/L

"p" değeri

Alzheimer hastalığı = 6730.4783

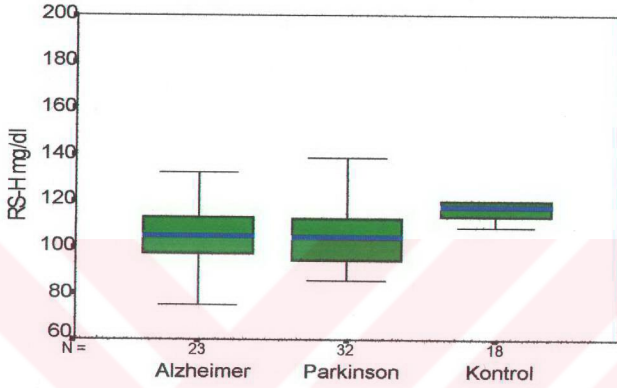
Alzheimer - Parkinson = 0.0559

Parkinson hastalığı = 6176.8438

Alzheimer - Kontrol = 0.7825

Kontrol grubu = 6687.3889

Parkinson - Kontrol = 0.0954

Tablo. 15 : RS-H düzeylerinin örneklere göre dağılımı**Ortalama değeri; mg/dl****"p" değeri**

Alzheimer hastalığı = 107.1271

Alzheimer - Parkinson = 0.8779

Parkinson hastalığı = 109.3933

Alzheimer - Kontrol = 0.0089

Kontrol grubu = 118.5228

Parkinson - Kontrol = 0.0038

5.TARTIŞMA:

Yaşlanmanın moleküler mekanizması ile ilgili çeşitli hipotezler ileri sürülmüştür (17):

Yaşlanma sürecinde DNA ve RNA'da olan değişiklikler ile ilgili en az üç hipotez mevcuttur. Zhores ve Medvedev'e göre: Yaşla birlikte mutasyon ve kromozom anomalileri oluşur. Bu hatalar, fonksiyonel genlerde biriktikçe, rezerve fazla DNA ardışıkları buralardan atılana dek birikir. Yaşlanma bu olayı takip eder.

Alternatif bir hipotez ise: Yaşlanma süreci için özel bir program yoktur. Zamanla, çeşitli etkilerle DNA duplikasyonunda hatalar oluşur. Bu hatalar anormal mRNA oluşana dek devam ettiğinde normal işlev göstermeyen proteinler üretilir. Yaşlılık bu olayın sonucu ortaya çıkar.

Diğer bir hipotez ise(Bernhad Strehler); Yaşlanmanın gelişimsel sürecin bir parçası olduğu ve genetik olarak kontrol altında olduğudur.

Leonard Hayflick araştırmalarında; insan fibroblastlarının elli kez bölündüğünü ve bunun 7-9 aylık bir süreyi kapsadığını saptadı. Fare fibroblastları 15, galapagos kaplumbağası fibroblastları 90 kez bölündüğü tespit edildi ki bu sözkonusu cinslerin yaşam süreleriyle de uyumludur. Ayrıca insan fibroblastlarının 35. bölünmeden sonra, bölünme kabiliyetlerinin azaldığı tespit edildi. Eğer yaşlı bir fibroblastın içine genç bir fibroblastın genleri enjekte edilirse sitoplazma olarak yaşlı ama nukleus olarak genç olan yeni fibroblastın bölünmesinin hızlandığı görüldü. Bu da bölünmenin dolayısıyla yaşlanmanın genetik kontrol altında olduğuna işaret etmektedir.

Yaşlanma süreci içinde genetik materyel çeşitli oksidantlara maruz kalarak değişikliğe uğrayabilir. Özellikle hidroksil radikali, DNA'da kenar kırıkları oluşturmasının yanısıra, deoksiriboz, purin, pirimidin bazlarında kimyasal değişimleri indükleyebilir. Bu nedenle organizmanın antioksidan düzeylerinin, yaşam süresi ile ilişkili olduğu düşünülebilir (1,34).

Mitokondrial delesyonlar; DNA hasarının zaman içinde arttığı postmitotik dokular olan; beyin, kalp ve kas dokusunda oluşmaktadır. Çeşitli mitokondrial DNA nokta mutasyonları da yaşlanma ile birlikte artar. Oksidatif hasardaki yaşa bağlı artışların mitokondrial DNA'ya etkilerinin belirlenmesi, bir marker olan 8-hidroksi 2-deoksiguanozin ölçümleri ile yapılmaktadır. Bu madde; çeşitli serbest radikallerin artışı sonucu meydana gelen deoksiguanozinin oksitlenmiş formudur. Mitokondrial delesyonlarla ilişkili yaşa bağlı bu artışlar, insan diyafram ve kalp kasında ortaya çıkar. İnsan beyin dokusundan elde edilen mitokondrial DNA'da, 8-hidroksi 2-deoksiguanozin düzeyleri yönünden araştırıldığında 70 yaş ve üzerindeki örneklerde, nükleer DNA'ya oranla 15 kata varan yaşa bağlı artışlar bulundu (3, 35).

Antioksidan mekanizmaların yaşam sürelerine etkilerini incelemek üzere farklı memeli türlerindeki endojen antioksidanların miktarları incelendiğinde; öncelikle süperoksit dismutaz (SOD) enzimi üzerindeki çalışmalarda maksimum yaşam süresi ile SOD aktivitesi arasında pozitif korelasyon saptandı. Memeliler içinde, SOD aktivitesi insanda maksimum olmakla birlikte, yaşam süresi en az olan farede en düşük miktarda bulundu. Ayrıca α - tokoferol, karotenoidler, ürat, dokuya özgü askorbik asit düzeyleri ile yaşam süresi arasında pozitif korelasyon bulundu (7).

Bu bulgularla paradoks oluşturan sonuçlar ise; glutatyon peroksidaz, katalaz, aktivitesi ve glutatyon düzeyleri ile maksimum yaşam süreleri arasında negatif korelasyon bulunmasıdır. Bir diğer bulgu; oksijen radikallerinin önemli kaynağı olan sitokrom P-450 aktivitesini memeli türünün yaşam süresi ile ters orantılı olmasıdır (7).

Serebrospinal sıvı düşük miktarda transferrin ve serüloplazmin içerir. Bu bileşikler demir ve bakırı bağlayabilme özelliklerinden dolayı antioksidan olarak görev yaparlar. Bu geçiş metallerinin düzeyleri, hidroksil radikalleri gibi çok toksik olan oksijen radikallerinin oluşumunda görev alabileceklerinden dolayı önemlidir (1).

Beyin; yüksek metabolik aktivitesi nedeniyle diğer dokulara göre daha çok oksijen ve glukoz kullanır. Beyin, vücut ağırlığının %2'sini oluştururken, total inspirium oksijenin %20'sini, total glukozun 3/4'ünü kullanır. Moleküler oksijenin fazla kullanımı, beyin oksidatif süreçten diğer dokulara oranla daha fazla zarar görmesinin tek nedeni değildir. Beynin çok doymamış yağ asitlerinden (PUFA) oldukça zengin olması, beyin dokusunu serbest radikallerin oluşturabileceği hasar açısından hassas kılmaktadır (1).

Yaşla birlikte beyindeki değişikliklere bağlı olarak motor koordinasyonda, uykuda, mental işlevlerde, çeşitli davranışlarda değişimler saptanır.

Beyinde en sık gözlenen morfolojik değişiklikler: 1- Beyin ağırlığının ve protein içeriğinin azalmasıdır. 2-Nöron kaybı sözkonusudur. Bu subkortikal çekirdeklerde ve serebral korteksde belirgindir. 3-Dopamin, norepinefrin ve daha az olarak da kolinerjik sistemde görevli enzimlerde de azalma gözlenir.

Bu bilgilerin ışığında çeşitli nörotransmitterlerin işlevlerine özel hastalıklar (Parkinson,Alzheimer gibi) yaşla birlikte artarak ortaya çıkar. Parkinson hastalığında; dopaminerjik aktivitede, Alzheimer hastalığında; kolinerjik sistemde yetmezlik ile beraber norepinefrin, serotonin, somatostatin, nöropeptid Y, kortikotropin-releasing faktör, substans P düzeylerinde de nöronal kayıp sonucu değişiklikler oluşmaktadır (17).

Nörodejeneratif hastalıklardaki (Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı ...) hücre ölümünün, eksitatör aminoasit reseptörlerinin aktivasyonu sonucu olduğu (eksitotoksisite) gösterildi. Eksitatör aminoasit olan N-metil D-Aspartat (NMDA) reseptörü aktivasyonunun süperoksid oluşumunu arttırdığına yönelik direk bulgular elde edildi (3,36). Kültüre edilmiş serebellar nöronlarda elektron paramanyetik rezonans tekniği kullanarak yapılan incelemelerde eksitatör aminoasit reseptör aktivasyonunun, serbest radikal oluşumunu etkilediği gösterilmiştir. Serbest radikal temizleyicilerinin oluşan eksitotoksiteyi hafiflettiği tespit edilmiştir. Ayrıca; SOD düzeyleri yüksek olan transgenik farelerde, NMDA toksisitesinin invivo azaldığı gösterilmiştir (3).

Parkinson hastalığı ve yaşlanma sonucunda, beyinde çeşitli metabolik değişiklikler meydana gelmektedir. İnsan beyinde, yaşlanma sürecinde nigrostriatal dopaminerjik nöronlarda azalma söz konusudur. Parkinson hastalığındaki dopaminerjik nöron kaybı sonucunda dopamin açığa çıkmakta bu da dopamin metabolizmasındaki artışa, bunun sonucu olarak hidrojen peroksid ve oldukça toksik olan hidroksil radikali oluşumuna neden olmaktadır. Parkinson hastalığında bu artış daha hızlı olmaktadır. Hastalığın başlangıç döneminde, nöron kaybını kompanse etmek amacıyla reseptör sayısında artış olsa da, ileri dönemlerde reseptör sayısında da azalma olmaktadır. Dopamin reseptörleri, fazla miktarda çok doymamış yağ asidi içerikleri nedeniyle oksidatif strese oldukça duyarlıdır. Ayrıca reaktif oksijen türleri, reseptör proteinlerindeki ya da reseptöre bağlanmadan sorumlu sistemdeki tiol / disülfid bölgeleri ile reaksiyona girebilir. MAO-B aktivitesinin ileri yaşla beraber, olasılıkla glial hücre proliferasyonuna bağlı olarak artması da dopamin konsantrasyonunda azalmaya neden olur. (16).

Beyinde çeşitli metabolik olaylar (SOD, L-aminoasid oksidaz, glikolat oksidaz ve MAO enzimlerinin oluşturduğu reaksiyonlar) sonucunda hidrojen peroksid üretimi olmaktadır. Parkinson hastalığında SN'da (substantia nigra) MAO-B tarafından hızlandırılmış dopamin oksidasyonunun oksidatif stresi yükselterek bu nöronlardaki hidrojen peroksid oluşumunu arttırdığı ileri sürülmektedir. Bu oluşum dopaminerjik nöronların oksidatif defans mekanizmasının kapasitesini aşarak oldukça toksik oksijen türlerinin meydana gelmesine neden olabilir (37).

Parkinsonluların nöronlarındaki aşırı hidrojen peroksid oluşumunun toksik olarak kabul edilmesindeki temel neden, Fe^{+2} varlığında fenton reaksiyonuyla oldukça toksik molekül hasarı oluşturabilen hidroksil radikale dönüşmesidir. Hidroksil radikalleri DNA, membran lipidleri, proteinler ve karbohidratlar gibi makromoleküller ile hızla reaksiyona girerler. DNA'da kenar kırıklarının oluşumunun yanısıra deoksiriboz, pürin, pirimidin bazlarında kimyasal değişime neden olurlar. Hidroksil radikali, membran lipidlerinin çok doymamış yağ asidi yan zincirinden hidrojen atomunun alınmasıyla lipid radikali oluşturur. Lipid radikalinin yeniden

düzenlenmesinden sonra oluşan konjuge dienler bir peroksil radikali (ROO^{\cdot}) oluşturmak üzere O_2 ile reaksiyona girer. Peroksil radikali komşu intermembranöz protein reseptörlerine ve enzimlere zarar vermekle birlikte, başka bir yağ asidinden bir hidrojen atomu çıkarabilir, böylece lipid peroksidasyonu, zincir reaksiyonu halinde ilerler. Membrandaki lipid peroksidler membranın akıcılığını değiştirdikleri için, membran yapısının ve fonksiyonunun bozulmasına neden olmaktadır. Bu durum kalsiyum gibi iyonların hücre içine girişini kolaylaştırır. Ayrıca demir ve bakır, lipid hidroperoksidlerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonun yeniden başlatabilen peroksil ve alkoksil radikallerini oluştururlar. Hidroksil radikali protein molekülündeki amino asid kalıntılarına saldırarak protein-protein çapraz bağlarında değişikliğe neden olur. Meydana gelen hasar ortamda bulunan demirin katkısıyla daha da büyür. Oluşan hidroksil radikalleri, beyinde antioksidan defans mekanizmasında önemli derecede görev alan glutatyon peroksidaz tarafından etkisiz hale getirilemediği takdirde, yaşamsal enzimlerin yapısındaki proteinlerin etkinliklerinin yitirilmesine, beyin dahil tüm dokularda fonksiyonel bozukluğa ve hücre ölümüne neden olur. Bu olaylar Parkinson hastalığının etiyolojisinde ve hastalığın gidişinde önemli yer tutmaktadır (15,38).

Normal koşullarda serbest radikallerin sürekli üretimi sonucu oluşabilecek etkiler, güçlü antioksidan enzimlerle engellenir. Bunlar arasında sitozolik Cu/Zn- SOD ve mitokondrial Mn-SOD bulunur. Bu enzimler oksijenin hidrojen peroksid ile dismutasyonunu katalizleyerek oksijen toksisitesini engeller. Cu/Zn-SOD geninin, parkinson hastalığında SN'da dejeneratif süreçten zarar gören hücrelerin bir alt grubu olan nöromelanin içeren pigmente nöronlarda büyük ölçüde bulunduğu ifade edilmesi, oldukça reaktif oksidatif maddelerin bu hücreler içinde anlamlı konsantrasyonlarda üretildiğinin bir göstergesi olabilir (39).

SOD inhibitörü olan dietilditiokarbomatın (DDC) MPTP ile parkinson modeli oluşturulmuş farelere uygulanması, MPTP'nin nörotoksik etkisini potansiyalize etmektedir. Cu/Zn SOD aktivitesi yüksek transgenik fareler MPTP'nin nörotoksik etkisine direnç göstermişlerdir (15, 40)

Parkinson hastalığında SN'daki oksidatif hasar, dopaminin oksidatif deaminasyonundan oluşan hidrojen peroksit ve gliadaki nöronlarda dopaminin otooksidasyonuna bağlıdır. Ayrıca nöromelaninin demire spesifik bağlanımı, metal iyonunun indirgenmesi ve sonrasında hidrojen peroksitin hidroksil radikaline metal-katalize redüksiyonu da oksidatif hasarla ilişkilidir. Sonuç olarak dokuda bu hasara karşı koyması beklenen SOD, glutatyon peroksitaz aktivitelerinde azalma ve dokuda askorbat ve glutatyon miktarlarında düşme olabileceğini destekleyen çalışmalar mevcuttur(41).

Yapılan bir diğer çalışmada parkinson hastalarının SN'da lipid peroksitasyonunun, demir içeriğinin ve SOD aktivitesinin arttığı, glutatyon düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (42). Riederer ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, nöron kaybının derecesi ile glutatyon deplesyonu arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur (16).

Hücrel metabolizma sonucu oluşan hidrojen peroksitin toksik etkilerini engelleyen en güçlü enzimlerden biri olan glutatyon peroksitaz özellikle orta beyin glial hücrelerinde bulunur. Nörolojik olarak herhangi bir patolojisi olmayan beyinde, immunohistokimyasal metodlarla glutatyon peroksitaz içeren glial hücrelerin yoğunluğu, mezencephalonun çeşitli dopaminerjik hücre grupları arasında farklılıklar gösterir. Örneğin merkezde bulunan gri maddede yüksektir (parkinson hastalığında korunmuştur), SN zona compactada düşüktür (parkinson hastalığında en çok etkilenen bölge). Kontrollerin beyindeki glutatyon peroksitaz (+) hücre yoğunluğu ile parkinson hastalığındaki dopaminerjik nöronlar arasında negatif bir ilişki varlığı gösterilmiştir. Parkinson hastalığında en çok etkilenen nöronların, düşük yoğunlukta glutatyon içeren (+) hücrelerle çevrildiği, bu nedenle oksidatif strese karşı yeterince korunamadığı bulunmuştur (16).

Glutasyon peroksidazın kosubstratı olan glutasyon, sistein içeren bir tripeptiddir ve beyinde çok yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Peroksidlerin uzaklaştırılması, GSH'ın (Redükte glutasyon) glutasyon peroksidaz tarafından GSSH'a (Okside glutasyon) dönüşümü ile sonuçlanır. GSH'nın instabilitesi oksidatif stresin yaygın kabul edilen bir göstergesidir (43).

Parkinson hastalığı tedavisinde, uzamış L- Dopa tedavisinin yan etkileri bile teorik olarak artmış hidrojen peroksid oluşumu ve sonuçta artmış hidroksil radikali ile bağlantılı bulunmuştur (44).

Serbest radikal artışı SOD, katalaz, glutasyon peroksidaz ve diğer antioksidan sistemleri ile tamponlanamazlarsa, dopaminerjik nöronların kompensatuvar hiperaktivitesi kendi kendini tahrip eder hale gelebilir. Parkinson hastalığında en çok etkilenen bölgelerden biri olan substantia nigrada glutasyon, α - tokoferol, çinko, demir, bakır, ferritin düzeylerinde önemli değişikliklerin olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bu da serbest radikal artışı ve antioksidan mekanizmasındaki dengede bir bozukluk olduğunu düşündürmektedir (16).

Parkinson hastalığında; yükselmiş demir oranının bulunması kesinlikle gerekli olmasa da , kan beyin bariyerini (KBB) normalde geçemeyen demirin (Mn , Al , Zn geçer) parkinson hastalarının SN'da aşırı miktarda bulunması ayrı bir araştırma konusudur. Demirin beyindeki dönüşümü karaciğere oranla çok yavaştır. Normalde demir oranının çoğu KBB matür halini almadan önce beyine girer ve olasılıkla hayat boyu beyinde kalır. Bununla beraber demirin nöronal transport yoluyla beynin bir bölgesinden diğerine göç ettiği de bilinir. Doğum sırasında beyindeki demir oranı ve transferrin reseptörü serebral korteksde daha belirginken, ilerleyen yaşlarda demir ,globus pallidus , SN , dentat gyrus , interpedinküler nukleus gibi bölgelere transloke olur (15).

6-OHDA (6-hidoksi dopamin) ile yapılan hayvan çalışmalarında,nöron yıkımı nedeniyle meydana gelen parkinson modelinin mekanizmasının; 6-OHDA' nın oksidasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksid ve oksidatif radikallerin neden olduğu ortaya konulmuştur (45). 6-OHDA'nın nörotoksisitesinin demir şelatlayıcı olan deferroksamin ile engellendiği gösterilmiştir. Monteiro ve Winterbourn ise 6-OHDA'nın, demirin bağlandığı yerden ve ferritinden ayrılmasını sağladığını göstermişlerdir. Serbest kalan demir oksidatif stresi başlatır, değiştirdiği kalsiyum homeostazı yoluyla hücreye zarar verir (15).

Parkinson hastalığının substantia nigrasında postmortem yapılan çalışmalar, ferritin düzeylerinin azaldığını göstermiştir (16). Bu da bize demirin dağılım ve depolanmasında bir patoloji olduğunu göstermektedir.

J.Sian ve arkadaşları ise; parkinson hastalarının substantia nigrasında ve beyinin diğer bölgelerinde oksidatif stres ve antioksidan defans mekanizması ile ilgili önemli bir değişiklik saptamadılar (42).

Hiramatsu ve arkadaşları; fare beyin mitokondrilerinde elektron spin rezonans spektrofotometresi kullanarak, dopaminerjik nöronları yok eden nörotoksik madde olan 6-OHDA'nın serbest oksijen radikalleri ürettiğini gösterdiler. 6-OHDA'nın çinko ve metallothionein düzeylerini değiştirip değiştirmeyeceğini araştırmak üzere yaptıkları çalışmalarda; striatumda çinko ve metallothionein düzeylerini azalmış olarak buldular, fakat diğer bölgelerde bir değişiklik gözlemediler. Parkinson hastalığında yüksek konsantrasyonda demir içeren striatum, intracellüler redoks potansiyelini regüle eden metallothioneini düşük miktarda içermekte ve oksidatif hasardan daha kolay zarar görmektedir (16).

Zecca ve arkadaşları tarafından, demir ve bakıra ilaveten Zn, Se, Sr, Co, Sb, Ni, Hg, Au, Ce, Ag, Ta, Sc, gibi diğer elementlerin ve nöromelaninin de, SN'de ve putamende yüksek konsantrasyonda olduğu gösterildi.

Bu bulgulara göre: SN ve putamenin kanda gözlenenenden daha fazla konsantrasyonda metal iyonu içerdiği ve nöromelaninin metaller için belli bir affinitesi olduğunu göstermektedir (16).

Jimenez ve ark. Parkinson hastalarının serumunda, çinko ve bakır düzeyleri ile ilgili yaptıkları araştırmada, kontrollere kıyasla bu parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptamadılar. Bakır ve çinko düzeylerinin Parkinson hastalığında risk oluşturmadığı sonucuna vardılar (16).

Cheng ve ark. Parkinson hastalarının serum ve BOS'unda; seruloplazmin, bakır, çinko, demir, manganez, kadmiyum düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmalarında, kontrollere göre, serum bakır konsantrasyonlarını anlamlı derecede düşük, BOS bakır düzeylerini yüksek tespit ettiler. Serum çinko düzeyleri anlamlı derecede düşük bulundu, fakat BOS çinko düzeylerinde anlamlı değişiklik saptanmadı. Serüloplazmin, demir, manganez, kadmiyum değerlerinde serum ve BOS örneklerinde önemli bir değişiklik tespit edilmedi (46).

Parkinson hastalığında beyinde meydana gelen bu değişikliklerin seruma olan yansıması ve olayın antioksidan sistemde meydana getirdiği değişikliği incelemek üzere yaptığımız bu çalışmada araştırılan parametrelerde şu değişiklikler tespit edildi:

Antioksidan savunmada önemli bir görev üstlenen SOD enzimi aktivitesi, Parkinson hastalarının serumunda kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük tespit edildi ($p = 0.0037$). Sonuçların beyinde yapılan çalışmaların bazıları ile korele olması (3,15,40,41), hastalıkta SOD enzim aktivitesinde sistemik bir eksiklik olabileceğini düşündürdü. Ayrıca artmış oksidatif stres nedeniyle kullanımın artmasına bağlı SOD miktarının azaldığını düşünüyoruz. SOD enziminin katalizlediği reaksiyonun son ürünü hidrojen peroksiddir. Hastaların tedavisinde kullanılan L-DOPA'nın metabolizması sırasında oluşan hidrojen peroksid, SOD enzimini, son ürün inhibisyonu şeklinde aktivitesini engelliyor olabilir (1).

Hidrojen peroksid üretiminin fazla olduğunu düşündüğümüz Parkinson hastalarında, kullanımın artmasına bağlı glutatyon peroksidaz aktivitesini kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı olamasa da daha düşük tespit ettik ($p = 0.0954$). Bu durum bazı araştırmacıların beyinde yaptıkları çalışmaları

desteklemekteydi (15,16,38,41). Fakat hidrojen peroksid katabolizmasında önemli yer tutan katalaz enzimini de gözönünde bulundurmak gerekir.

Serum RS-H (total sülfidril grupları): Serumda -SH gruplarını bakımından en yüksek seviyede bulunan redükte glutatyonun bir göstergesi olarak kabul ettik (32,47). Serum RS-H düzeylerini parkinson hastalarında kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük tespit ettik ($p = 0.0038$). Bu da bize Parkinson hastalarında, kontrollere göre serumda oksidatif stresin daha fazla olduğunu ve glutatyon peroksidaz ile glutatyon redüktaz enzimleri arasında dengenin bozulduğunu düşündürmektedir.

Sitozolik SOD yapısında bulunan bakır ve çinkonun serum düzeyleri araştırıldığında; Parkinson hastalarında kontrollere göre bakır sonuçlarında bir fark olmadığını, çinko düzeylerinde ise hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlendi ($p = 0.0465$). Bakır sonuçlarımız Jimenez ve arkadaşlarının sonuçları ile uyumluydu. Çinko sonuçlarımız ise Cheng ve arkadaşları ile benzerlik gösteriyordu. Sonuç olarak Parkinson hastalığında gözlenen gerek depresyon gerekse iştah azalması nedeniyle beslenme bozukluğuna bağlı bu metallerin serum düzeylerinde azalma olabileceğini düşünüyoruz. Ayrıca beyinde çok daha fazla artmış bakır ve çinko düzeyleri saptanan çalışmaların sonuçlarına göre bu metaller oksidatif stresi arttırmaktadır. Antioksidan savunması zayıf olan beyne daha fazla zarar vermemesi için, fizyolojik olarak organizmanın bu metallerin emilimini engelleyebileceğini düşünüyoruz. Sonuç olarak SOD enziminin stabilitesini sağladığı düşünülen çinkonun azalması enzim miktarının da azalmasına neden olabilecektir. SOD enziminin yapısındaki bakır ise, enzimden ayrılıp tekrar bağlanabilir ve SOD aktivitesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Ferroksidaz aktivitesi nedeniyle antioksidan özellik gösteren serüloplazminin serum düzeylerinde hasta grubunda kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptamadık. Bu da Cheng ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyum gösteriyordu.

Parkinson hastalığında önceden anlatıldığı gibi nöron yıkımının nedenlerinden birinin, beyindeki demir ve bunun depo formu olan ferritin arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (15). Yaptığımız çalışmada ise hasta grubu ve kontrollerde serum ferritin düzeyleri arasında herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir.

Bu sonuçların ışığında parkinson hastalığında beyinde artan oksidatif stres ve buna karşı olması beklenen antioksidan defans sisteminde bozulan dengenin seruma da yansiyabileceğini düşünerek yaptığımız çalışmamızda; Redükte glutatyonun bir göstergesi olarak kabul ettiğimiz RS-H düzeylerini, beyin antioksidan defans sisteminde önemli yer tutan SOD aktivitesini, ayrıca SOD enzimi yapısında yer alan çinko düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunması bize, oksidatif stresin artmış olduğunu düşündürdü. Çeşitli çalışmalarda belirtilen L-DOPA tedavisinin buna neden olabileceği gibi(44), hastalığın tüm organizmayı etkilemesinden de kaynaklanıyor olabilir. Eğer olay sistemik ise, tedavide antioksidanların kullanımına şimdikine göre daha geniş yer verilmesi gerekliliğinin önemini vurgulamak istiyoruz. Tedavi sırasında kullanılacak antioksidanların prooksidan özellikleri de gözönünde bulundurularak uygun seçim yapılmalıdır. Parkinson hastalığının etiolojisinde bazı viral enfeksiyonlar da sorumlu tutulmaktadır. Hastalarda daha az viral enfeksiyon görülmesi, kanser insidansının daha düşük olması, hücresel ve humoral immünitedeki bozuklukların varlığı olayın sistemik olma ihtimalini daha da güçlendirmektedir (48). Ancak daha kapsamlı çalışmaların bu görüşümüzü aydınlayacağı inancındayız

Alzheimer hastalığındaki enerji metabolizması ve oksidatif hasar ile ilgili araştırmalar incelendiğinde: Mizuna ve Ohta; yaşlı Wistar ratların çeşitli beyin bölgelerinde yaptıkları çalışmada yaşlı ratların frontal korteks septal bölge ve substantia nigrasında düşük, buna karşın incelenen diğer beyin bölgelerinde yüksek SOD aktivitesi tespit ettiler (49) .

Parker ve ark. Alzheimer hastalarının trombositlerinde yaptıkları çalışmada, sitokrom oksidaz aktivitelerini azalmış olarak bildirdiler (50). Smith CD ve arkadaşlarının Alzheimer hastalığı ve kontrol grubu beyinlerinde yaptıkları çalışmada, özellikle oksidatif stresden etkilenen glutamin sentetaz aktivitesinde azalma gözlemişlerdir (3) . Kish ve ark. Alzheimer hastalarının serebral korteksinde sitokrom oksidaz aktivitesini azalmış olarak bildirdiler (51).

Richardson ve ark. ; Alzheimer hastalarının frontal korteks, hipokampus ve serebellumunda % 25-30 SOD aktivitesinde azalma tespit etmişler, buna karşın diğer beyin bölgelerinde hiç bir farklılık saptamamışlardır(49) .

Ayrıca, Alzheimer hastalarının serebral korteksinde lipid peroksidasyonunda artış ile ilgili bulgular bulunmaktadır (3, 49).

Balazs ve Lean; Alzheimer hasta beyinlerinin çeşitli bölgelerinde yaptıkları çalışmalarda, occipital lopedaki artış dışında diğer bölgelerde ve kontrol grubunda anlamlı SOD değişikliği tespit etmediler(49) .

SOD ve katalaz antikoları ile yapılan çalışmada, senil plak ve nörofibriler yumaklarda artmış boyanma gözlemlendi. Kültüre nöronlarda sitokrom oksidaz inhibisyonu ile yapılan çalışmalarda, amiloidojenik fragmanların oluşumunda artış gözlemlendi. Enerji metabolizmasındaki bu değişiklik, serbest radikallerin beyin dokusunda β amiloid birikmesinde bir potansiyel teşkil edebilir(Şekil 1) . Ayrıca oksidatif stres Alzheimer hastalığı yönünden önemli bir risk faktörü olan ApoE 'ye amiloidin bağlanmasında artışa neden olabilir (3) .

Lovell ve ark. Alzheimer hastalığı ve aynı yaştaki kontrol beyinlerinin çeşitli bölgelerinde SOD, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalaz düzeylerini incelediler. SOD düzeyleri kontrollere kıyasla Alzheimer hastalarının tüm bölgelerinde artmıştı. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Glutatyon peroksidaz aktivitesini kontrollere kıyasla hipokampus bölgesinde, glutatyon redüktaz aktivitesini ise amigdala ve hipokampus bölgesinde istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmış olarak tespit ettiler. Katalaz aktivitesini Alzheimer hastalarının hipokampusunda, üst ve orta temporal gyrusda anlamlı ölçüde artmış olarak gösterdiler (49) .

Aynı araştırmacılar Alzheimer hastalığındaki histopatolojik değişimlerin en yoğun olduğu medial temporal lobda bulunan antioksidan enzimlerin kontrollere kıyasla artmış olarak belirlenmesinin, bu bölgede artmış oksidatif stres nedeniyle olduğu sonucuna vardılar.

Alzheimer hastalığında lipid peroksidasyonunun ve antioksidan enzim aktivitesinin arttığı bölgeler nörofibriler yumakların, senil plak oluşumunun en çok olduğu bölgelerdir.

Jeandel ve ark.; kötü beslenen, çoğu kaşektik hastaların kanında SOD, Glutatyon peroksidaz, α - tokoferol, askorbik asid düzeylerinin düşük olduğunu tespit ettiler. Bu eksikliğin yetersiz beslenme sonucu olduğu sonucuna vardılar. Buna rağmen, beyin antioksidan enzim aktivitesi kontrollere göre yetersiz değildi. Yapılan bu çalışmada kötü beslenmenin, beyindeki antioksidan sistemde görev alan bu maddelerde herhangi bir düşüşe neden olmadığı ve ayrıca Alzheimer hastalığında kötü beslenmeye rağmen, artmış oksidatif strese karşı beynin antioksidan üretimini arttırabildiğini gösterdi (52) .

Alzheimer hastalarının eritrositlerinde yapılan çalışmalarda, glutatyon peroksidaz aktivitesi kontrollere göre artmış, normal veya azalmış aktivite gösterebilmekteydi. Redükte glutatyon düzeyleri kontrollere göre amigdala ve hipokampus bölgelerinde anlamlı olarak yüksek bulundu. Katalaz aktivitesi Alzheimer hastalarının hipokampus, üst ve orta temporal bölgelerinde anlamlı olarak artmış bulundu. SOD aktivitesi Alzheimer hastalarının tüm beyin bölgelerinde artmış bulundu, fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı

değildi. Bu çalışma Alzheimer hastalarının beyinde oksidatif stresin artmış olduğu görüşünü desteklemekte ve oksidatif değişimlerin, histopatolojik değişimlerin en yoğun olduğu medial temporal lobda en çok olduğunu göstermektedir (49).

Alzheimer hastalığında, beyinde meydana gelen bu değişikliklerin seruma olan yansıması ve olayın antioksidan sistemde meydana getirdiği değişiklikleri incelemek üzere yaptığımız bu çalışmada, araştırılan parametrelerde şu değişiklikler tespit edildi:

Alzheimer hastalarında, beyinde yapılan çalışmaların ışığında özellikle nöron kaybının artmış oksidatif strese bağlı olduğunu düşünüyorduk. Alzheimer hastalığında 21.kromozomda delesyonların olduğunu bulunması (24), aynı zamanda SOD enzimini kodlayan genin de 21.kromozoma lokalize olması, bu enzim aktivitesinde genel bir fonksiyon bozukluğu olabileceğini düşündürdü. Çalışmamızda hasta grubunda SOD enzim aktivitesini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da düşük tespit ettik ($p = 0.0851$). Beyinde SOD aktivitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bizim sonuçlarımız Richardson ve arkadaşlarının çalışmalarıyla uyum gösteriyordu (49). SOD enzim aktivitesinin azalma nedenini daha doğru değerlendirebilmek için başka çalışmalara da ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz. Örneğin; bu enzimin mRNA düzeylerinde tespitini yaparak, enzim aktivitesinin durumu hakkında daha doğru sonuçlar alabileceğimizi düşünüyoruz.

Antioksidan defans mekanizmasında önemli bir yeri olan glutatyon peroksidazın da Alzheimer hastalarında artmış olan oksidatif stres nedeniyle kullanımının fazla olması sonucu, glutatyon peroksidaz aktivitesinin yükselebileceğini düşünüyorduk. Hasta grubunda kontrole kıyasla istatistiksel olarak bir değişiklik saptamadık ($p = 0.7825$). Bunun nedeni düşük SOD aktivitesine bağlı daha az hidrojen peroksid oluşumu olabilir. Ayrıca hidrojen peroksid katabolizmasında daha önemli yer tutan katalaz enziminin yeterli çalışması nedeniyle glutatyon peroksidaz enziminde önemli değişimler tespit edememiş olabiliriz.

Serum RS-H: total sülfidril gruplarını; Serumda -SH grupları bakımından en yüksek seviyede bulunan redükte glutatyonun bir göstergesi olarak kabul ettik (32,47). RS-H düzeylerini, Alzheimer hastalarında kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük tespit ettik ($p = 0.0089$). Bu hastalıktaki artmış oksidatif stres sonucu, ilk fırsatta redükte glutatyonun okside formuna dönüşmesi ya da DNA'daki oksidatif hasar nedeniyle sentezindeki azalmadan dolayı ölçtüğümüz serum R-SH düzeylerini düşük bulduğumuzu düşünüyoruz.

Çalışmamızda; SOD enzimi yapısında bulunması, aynı zamanda oksidatif özellik göstererek radikal oluşumuna katkıda bulunabilen bakır ve çinko parametrelerini de ilave ettik. Sonuçta hasta grubunda kontrollere göre herhangi bir değişiklik saptamadık.

Ferroksidaz aktivitesi nedeniyle antioksidan özellik gösteren serüloplazminin, serum düzeylerinde hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptamadık.

Nörodejeneratif hastalıklarda oluşan nöron kaybının bir nedeni olarak artmış demir ve azalmış ferritin düzeyleri sorumlu tutulmaktadır. Bunun sonucunda oluşan radikallerin nöron kaybına neden olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda Alzheimer ve kontrol grubunda serum ferritin düzeylerinde herhangi bir değişiklik saptamadık.

Alzheimer hastalığında serum düzeyinde RS-H hariç bir değişiklik saptamadık. Sonuç olarak bu çalışmada Alzheimer hastalığında düşük redükte glutatyon düzeyleri nedeniyle oksidatif stres artış olduğunu antioksidan sistemde önemli bir değişiklik olmadığını gözledik. Hastalığın sadece beyne özgü değil, organizmanın diğer bölgelerinde de olduğunu gösterebilmek için farklı doku çalışmaları yapılması gerekmektedir. DNA'daki oksidatif hasar nedeniyle de sentezinde azalma olabileceğini düşündüğümüz glutatyon gibi peptid düzeyindeki proteinlerle, ayrıca değiştiği söylenen antioksidan enzimlerin deneysel moleküler düzeyde kliniko-patolojik çalışmalarla araştırılması gerektiğine inanıyoruz.

6. ÖZET:

Alzheimer Hastalığı, Parkinson Hastalığı, Huntington Koresi, Amyotrofik Lateral Skleroz gibi nörodejeneratif hastalıklar ve yaşlanma gibi fizyolojik durumda, oksidatif stres ve buna karşı oluşan enzimatik ve non-enzimatik antioksidan savunma sistemlerinde bozulan dengenin etiopatogenezde güçlü bir yeri olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada görülme sıklığı giderek artan, hastaya ve çevresine büyük maddi ve manevi kayıplara neden olan Alzheimer ve Parkinson hastaları ile nörolojik ve biyokimyasal olarak normal yaşlı kişilerin serumlarında oksidatif stres ve antioksidan savunma sisteminde görev alan bazı parametreleri araştırmayı amaçladık.

Primer patolojinin beyinde antioksidan savunma sistemi ve oksidatif stres arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olduğu düşünülen bu hastalarda serumdaki değişiklikleri inceleyerek olayın hem sistemik yansımalarını incelemeyi hem de klinik tanı ve tedavide destekleyici ipuçları verip veremeyeceğini araştırdık.

D.E.Ü.T.F. Nöroloji Anabilim Dalı Demans Polikliniğinde tespit edilen 32 Parkinson Hastalığı, 23 Alzheimer hastalığı ve nörolojik ve biyokimyasal olarak normal olan, yaş ortalaması hasta grubu ile uyumlu 18 Kontrol grubunun açlık serum örnekleri alındı. D.E.Ü.T.F. Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında Süperoksid Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz, Çinko, Bakır, RS-H ölçümleri spektrofotometrik olarak, Ferritin ölçümü enzim immünassay yöntemiyle, Serüloplazmin ölçümü ise nefelometrik olarak değerlendirildi. Sonuçlar Mann-Witney U testi uygulanarak istatistiksel olarak anlamlılığı tespit edildi .

Parkinson hastalarında, beyin antioksidan savunma sisteminde önemli rolü olan SOD enzim aktivitesini, bu enzimin yapısında bulunan çinko düzeylerini ve redükte glutasyonun bir göstergesi olarak kabul ettiğimiz RS-H'nin serum düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulduk.

Alzheimer hasta grubunda ise sadece RS-H düzeylerini anlamlı derecede düşük bulduk.

Bulgular literatür ışığında tartışıldığında; Parkinson hastalığında beyinde olduğu düşünölen oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi denge bozukluğunun sistemik olduğunu ya da bunun L-Dopa tedavisine bağılı olabileceğini düşünöyoruz. Sonuçta Parkinson hastalığında sistemik olarak bozulan dengenin tedavide antioksidanlara uygun dozlarda yer verilerek giderilmesi gerektiğini düşünöyoruz. Alzheimer hastalarında redükte glutasyon düzeylerinin düşöklüğü bize sistemik oksidatif stres varlığını akla getirse de tek başına bunun yeterli olmadığını düşünöyoruz.

Sonuç olarak her iki hasta grubunda da sistemik olarak oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulduğunun kanıtlanabilmesi için moleköler düzeyde daha ileri çalışmaların yapılması gerektiğini düşünöyoruz.

7.KAYNAKLAR:

- 1- Russel J. Reiter: Oksidative processes and antioksidative defense mechanisms in the aging brain, FASEB J. 1995, 9: 526-533
- 2- Mohammad Athar, Mohamed Abdulla, Sarwat Sultana, AlainFavier, and Ronald Pero: Free Radicals and Trace Elements, The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine, 1993,6:65-73
- 3- M.Flint Beal: Aging, Energy, and Oksidative Stress in Neurodegenerative Diseases, Ann. Neurol. 1995, 38: 357-366
- 4- David A. Greenberg: Glutamate and Parkinson's Disease, The American Neurological Association 1994, 639
- 5- W.L. Scheider, L.A. Hershey, J.E. Vena, T. Holmlund, J.R. Marshall, and J.L. Freudenheim: Dietary Antioksidants and Other Dietary Factors in the Etiology of Parkinson's Disease, Movement Disorder Society, 1997, 12, 2: 190-196
- 6- John M.C. Gutteridge: Lipid Peroksidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage, Clin. Chem. 1995, 41/12, 1819-1828
- 7- Özgönül M. : Bir Monoamin Oksidaz İnhibitörü Olan Deprenilin Yaşlanmada Sıçan Karaciğer ve Böbrek Dokularına Etkileri, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 1996
- 8- Urakami K, Sato K, Okada A, et al: Cu, Zn Superoxide Dismutase in Patients with Dementia of the Alzheimer type, Acta Neurol Scand,1995: 91: 165-168
- 9- Dale S, Peter S, Kelly J. , et al: Biochemical Markers for Alzheimer Disease, Bulletin of Clinical Neurosciences, 1991, 56, 161-167
- 10-Mark A. Watson and Mitchell G. Scott: Clinical Utility of Biochemical Analysis of Cerebrospinal Fluid, Clin. Chem. 1995, 41/3, 343-360
- 11- Joseph T. Coyle and Pamela Puttfarcken: Oxidative Stress, Glutamate, and Neurodegenerative Disorders, Science, 1993 Vol. 262, 689-695
- 12- Tan, D.X, Chen L.D. Poeggeler, B. Manchester, L.C. and Reiter, R.J: Melatonin: A Potent Endogenous Hydroxyl Radical Scavenger. Endocrine j. 1993, 1, 57-60

- 13- H. Saggiu, J Cooksey, D.Dexter, F.R. Wells, A. Lees, P. Jenner, and C.D. Marsden: A Selective Increase in Particulate Superoxide Dismutase Activity in Parkinsonian Substantia Nigra, *Journal of Neurochemistry*, 1989, 53, 3: 692-697
- 14- Jenner P: Altered Mitochondrial Function, Iron Metabolism and Glutatyon Levels in Parkinson's Disease, *Acta Neurol Scand* 1993; 87: 146: 6-13
- 15- M.B.H. Youdim, D. Ben-Shachar, and P. Riederer: The Possible Role of the Etiopatology of Parkinson's Disease Movement Disorders, 1993, 8:1, 1-12
- 16- Manuchair Ebadi, Shashi K. Srinivasan and Mayur D. Baxi: Oxidative Stress and Antioxidant Therapy In Parkinson's Disease, *Progress in Neurobiology*, 1996, vol.48, 1-19.
- 17-James Goldman Lucien Cote: Aging of Brain:Dementia of the Alzheimer's Type, In *Principles of Neural Science Third Edition*, 1991, 975-983.
- 18- Yener G. : Alzheimer Hastalığı ve Frontal Lob Demansın Ayırt Edilmesinde Kantitatif EEG Ve Xenon 133-Spect İle İlişkisi, D.E.Ü.T.F. Nöroloji A.B.D. Uzmanlık Tezi, 1994.
- 19- Shoji M ,Golde TE, Ghiso J, et al: Production of the Alzheimer Amyloid Beta Protein by Normal Proteolytic Processing, *Science*1992, 258: 126-129
- 20- Ephrat Levy-Lahad, Thomas D.Bird: Genetic Factors in Alzheimer's Disease: A review of Recent Advences, *Neurological Progress*, 1996: 829-840
- 21- Strittmatter W.J., Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1993, 90: 1977-1981
- 22- Mendez MF, Underwood KL, Zander BA, Mastri AR, Sung JH, Frey II WH: Risk Factors in Alzheimer's Disease: A Clinicopathologic Study. *Neurology* 1992,42:770-775
- 23- John P. Blass: Pathophysiology of the Alzheimer's Syndrome, *Neurology*, 1993; 43: 25-38
- 24- Denham Harman: Free Radical Theory of Aging: Alzheimer's Disease Pathogenesis, 1995: 18, 97-119

- 25- Joe M. Mc Cord: Human Disease, Free Radicals, and the Oxidant / Antioxidant Balance Clinical Biochemistry, 1993, 26: 351-357
- 26- Özdemir G. : Reaktif Oksijen Partikülleri, Roche Bilimsel Eserler Serisi 1993 Eskişehir.
- 27- Kılınc K. : Oksijen Radikalleri; Üretilmeleri , Fonksiyonları ve Toksik Etkileri, Biyokimya Dergisi, 1985, 10: 59-89
- 28- Külahçioğlu Girgin F. : Yaşlanmada MAO İnhibitörlerinin Sıçan Kalp Dokusunda Oksidan Stres ve Antioksidan Sistemlere Etkileri, Doktora Tezi, E.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1996
- 29- D.M De Silva and S.D. AUST: Ferritin and Ceruloplasmin in Oxidative Damage: Rewiev and Recent Findings. J. Physiology Pharmacol. 1993, 71: 715-720
- 30- Barry Halliwell: Free Radicals: Antioxidants and Human Disease: Curiosity, Cause or Consequence?, The Lancet, 1994, 344: 721-724
- 31- Anthony T. Diplock: Antioxidants and Free Radical Scavengers in Free Radical Damage and Its Control, 1994, Chapter 4, 113-129
- 32- Hızır Kurtel, D. Neil Granger, Patrick Tso, et al: Vulnerability of Intestinal Interstitial Fluid to Oxidant Stress. American J. Physiological Society, 1992, 263:573-578
- 33- Hayran M, Özdemir O. : Bilgisayar-İstatistik ve Tıp, 15: 215-217
- 34- Chaudiere J.: Some Chemical and Biochemical Constraints of Oxidative Stress in Living Cells, in Free Radical Damage and Its Control, 1994, Chapter 2, 25-65
- 35- Meccoci P. Mac Garvey U, Kaufman AE, et al: Oxidative Damage to Mitochondrial DNA Shows Marked Age-Dependent Increases in Human Brain. Ann Neurol 1993, 34: 609-616.
- 36-Kimberly L. Clapp, Stephen Laidlaw, Ian J. Mitchell, Catherine M. Waters: Excitoxic Neurotoxicity İn An Invitro Brain Slice Model, Biochemical Society Transactions, 1995; 23: 547-602.

- 37-Naoi M. , Maruyama W.: Type B MAO And Neurotoxins, Eur. Neurol. , 1993, 33: 31-37.
- 38-V. M. Mann, J. M. Cooper, S.E. Daniel, FRC, K.Srai, P. Jenner: Complex-1, Iron and Ferritin in Parkinson's Disease Substantia Nigra , Ann Neurol. 1994, 36: 876-881.
- 39- Ceballos I, Sinet P.M., Nicole A., Lafon M., Hirsch E., Javoy-Agid F. and Agid Y. : Superoxide Dismutase and Parkinson's Disease, Lancet, 1990: 1035-1036.
- 40- Przedborski S., Kostic V, Jackson-Lewis V, et al: Transgenic Mice with Increased Cu/Zn SOD activity are Resistant to MPTP Induced Neurotoxicity, J. Neurosci. 1992; 12: 1658-1667
- 41- Riederer P., Sofic E., Rausch W-D et al: Transition Metal, Ferritin, Glutathione, and Ascorbic Acid in Parkinsonian Brains. J. Neurochem, 1989; 52: 515-520
- 42- J. Sian, Dexter DT, Less A.j, Daniel S, Jenner P, Marsden CD. : Glutathione-Related Enzymes in Brain in Parkinson's Disease Ann. Neurol. 1994; 36: 356-361
- 43- G. Cohen: The Brain on Fire? Ann. Neurology. 1994, 36: 3, 334-334
- 44- Olanow C.W. : Oxidation reactions in Parkinson's Disease. Neurology, 1990; 40: 32-37
- 45- M.B.H. Youdim, D. Ben-Shachar, G. Eshel, et. al: Protection 6.OH Dopamine Induced Nigrostriatal Dopamine Lesions by the Iron Chelator Deferoxamine Mesilate: Implications of Increase in Iron in Parkinson's Disease in International Workshop Berlin Parkinson's Disease, 1991, 26-34
- 46- BY Pan, QL Cheng, ZX He & CCSu. :Transition Metals in Serum and CSF of Patient with Parkinson's Disease. Abstracts of the XII. International Symposium on Parkinson's Disease. 1997, 12:33
- 47- James D Adams, JR., Bernhard H. Lauterburg and Jerry R. Mitchell: Plasma Glutathione and Glutathione Disulfide in the Rat: Regulation and Response to Oxidative Stress. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1983, 227: 749-754

- 48- W.Kuhn, T. Müller, I. Nastos and D. Poehlau. : The Neuroimmune Hypothesis in Parkinson's Disease. *Reviews in the Neurosciences*. 1997; 8: 29-34
- 49- Mark A.Lovell, W.D.Ehmann, S.M. Butler, W.R.Marksbery: Elevated Thiobarbituric Acid-Reactive Substances and Antioxidant Enzyme Activity in the Brain in Alzheimer's Disease. *Neurology*, 1995; 45: 1594-1601
- 50- Parker WD, Jr. Filley CM, Parks JK: Cytochrome Oxidase Deficiency in Alzheimer's Disease. *Neurology*, 1990; 40: 1302-1303
- 51- Kish SJ., Bergeron C. Rajput A, et al: Brain Cytochrome Oxidase in Alzheimer's Disease. *J. Neurochem*. 1992; 59: 776-779
- 52- Jeandel C. Nicolas MB, Dubois F, Nabet-Belleville F, Penin F, Cuny G. : Lipid Peroxidation and Free Radical Scavengers in Alzheimer's Disease. *Gerontology*, 1989; 35: 275-282

