

T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANDA VENTRAL VE DORSAL STRİATUMUN HAFİF VE
AĞIR DOPAMİNERJİK DENERVASYONU MODELLERİNDE
A POMORFİNLE TETİKLENECEK DOPAMİN DİSREGÜLASYON
SENDROMU VE DÜRTÜ KONTROL BOZUKLUĞUNUN
İNCELENMESİ

Dr. Esra ÖZKAN

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA
2016

T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANDA VENTRAL VE DORSAL STRİATUMUN HAFİF VE
AĞIR DOPAMİNERJİK DENERVASYONU MODELLERİNDE
A POMORFİNLE TETİKLENECEK DOPAMİN DİSREGÜLASYON
SENDROMU VE DÜRTÜ KONTROL BOZUKLUĞUNUN
İNCELENMESİ

Dr. Esra ÖZKAN

Danışman:

Prof.Dr. Bülent Elibol

Prof. Dr. Esen Saka TOPÇUOĞLU

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2016

TEŞEKKÜR

Bu tezin her aşamasında, her türlü bilimsel ve moral desteği veren, tez danışmanlarım sayın Prof. Dr. Esen Saka Topçuoğlu ve sayın Prof.Dr. Bülent Elibol'a gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Bir ekibin parçası olduğumu hissettiren, her ihtiyaç duyduğumda yardıma koşan Uzm. Dr. Gül Yalçın-Çakmaklı'ya, başta Prof. Dr. Turgay Dalkara olmak üzere, Doc. Dr. Emine Eren Koçak ve Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Enstitüsü'nün desteklerini esirgemeyen diğer tüm çalışanlarına, nöroloji eğitimime katkılarından dolayı Hacettepe Üniversitesi Nöroloji Anabilim Dalında görevli değerli öğretim üyelerinin tümüne teşekkürü bir borç bilirim.

Tezin ve hayatın her aşamasında beraber yürüdüğümüz sevgili dostum Dr. Duygu Şen'e, Ankara'yı ve dünyayı sevme nedenlerimden biri Dr. Serhat Okar'a, aydınlanma anlarımız için Dr. İrem Erkent ve Dr. Umur Türkyılmaz'a, sınırsız dostluğu için Dr. Ferit Hasiyev'e, güzel eski zamanlar için Dr. Erdal Kurt ve Uzm. Dr. Yasir Pektezel'e ve adını sayamadığım nöroloji asistan ekibindeki tüm sevgili dostlarıma da teşekkür ederim.

Ayrıca beraber on yılı devirdiğimiz Ankara'daki ailem Tuğberk İşyapar ve Berna Karakaş'a,

En güzel kadınlar klübümün sevgili üyeleri Pelin Yargıç ve Sıla Bilgin'e,

“Her şeyin uzmanları”ndan İlker Şahin'e de çok teşekkürler!

Son olarak her zaman sınırsızca yanımda olan ve tarifi zor şekilde sevdiğim-sevildiğim canım aileme de teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi tarafından THD-2015-6917 numaralı hızlı destek projesi olarak desteklenmiştir.

ÖZET

ÖZKAN E., Sıçanda ventral ve dorsal striatumun hafif ve ağır dopaminerjik denervasyonu modellerinde apomorfinle tetiklenecek dopamin disregülasyon sendromu ve dürtü kontrol bozukluğunun incelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Uzmanlık Tezi. Ankara, 2016. Parkinson hastalığında, dopamin replasman tedavilerine (DRT) bağlı oluşan dürtü kontrol bozuklukları ve dopamin disregülasyon sendromu hastaların hayat kalitesini ciddi şekilde etkilemektedir. Yapılan çalışmalar bu bozuklukların daha çok ventral striatal devrelerin DRT'ye bağlı sensitizasyonu ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Bu çalışmada Parkinson hastalığında görülen bu davranış bozukluklarının modellenmesi, patogeneze dair yeni bilgilerin ortaya konması ve dopaminerjik denervasyonun ventral/dorsal yayılımının etkisinin incelenmesi hedeflendi. Bu amaçla, sıçanlarda 6-hidroksidopamin toksininin bilateral ventral tegmental alan (VTA) ve bilateral substansia nigra (SN)'ye stereotaksik enjeksiyonuyla oluşturulan deneysel parkinsonizm modeli kullanıldı. Bu sıçanlarda düşük doz apomorfinin ödüllendirici etkilerinin görülmesi için koşullanmış alan tanıma paradigmasında koşullanmadan sonra ilaçla ilişkilendirilmiş alanı tercihleri değerlendirildi. Daha sonra 7 gün, günlük yüksek doz apomorfinle tetiklenen stereotipik ve diskinetik hareketler uygun skalalar ile değerlendirildi. Çalışmaya ayrıca lezyon oluşturulmadan ilaç tedavisi verilen ve lezyon oluşturulduktan sonra SF tedavisi verilen kontrol sıçanlar da dahil edildi. Davranış deneylerinin sonunda striatal tirozin hidroksilaz immünohistokimyasal boyaması ile dopaminerjik denervasyonun topografik dağılımı hesaplandı. Dopaminerjik denervasyon yapıp apomorfin tedavisi alan sıçanlarda günler içerisinde gittikçe artan diskinetik davranışlar görüldü. Bu davranışlar ortalama lezyon yüzdeleri ile yakın ilişkili olarak saptandı. Düşük doz apomorfin ile parkinsonizmi olan sıçanlarda koşullanmış alan tercihi geliştiği, diğer sıçanların ise ilaçla ilişkili alandan kaçındıkları gözlemlendi. Koşullanma skorlarının ortalama ventral striatal lezyon yüzdesi ile orta anlamlılıkta pozitif korelasyon gösterdiği bulundu. Kronik apomorfin tedavisi ile stereotipik hareketlerin ise dorsal ağırlıklı dopaminerjik denervasyon geliştirilen grupta baskılandığı görüldü. Bu bulguların PH'de dopaminerjik tedavilerle indüklenen davranışsal bozukluklarla ilişkili moleküler mekanizmaların da aydınlatılacağı ileri çalışmalara temel oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Parkinson hastalığı, 6-OHDA, Dopamin disregülasyon sendromu, Punding, sıçan

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi tarafından THD-2015-6917 numaralı hızlı destek projesi olarak desteklenmiştir.

ABSTRACT

ÖZKAN E., Investigation of dopamin dysregulation syndrome and impulse control disorders induced by apomorphine in rat partial and total dopaminergic denervation model at ventral and dorsal striatum. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Neurology. Ankara, 2016. In Parkinson's disease, dopamine replacement therapy related impulse control disorders and dopamine dysregulation syndrome are associated with reduced quality of life. Few studies demonstrated that this behaviours stem from a DA-dependent sensitization to appetitive stimuli within the ventral striatum. In this study, we aimed to build an animal model of this behaviours, extend the knowledge about pathophysiology of this behaviours and investigate the role of ventral/dorsal distribution of dopaminergic denervation. For this purposes, we developed experimental model of parkinsonism by injection of 6-hydroxydopamine toxin to bilateral VTA or SN. For exploring the rewarding properties of low dose apomorphine, the preference of drug paired compartment after conditioning of these rat is studied at conditioned place preference paradigm. After CPP experiment, these rats are treated with daily high dose apomorphine. Drug induced stereotypic and dyskinetic behaviours analysed with suitable scales. Study also included rats with parkinsonism treated with saline and normal rats treated with saline or apomorphine. At the end of all behavioural tests, extend of dopaminergic denervation is showed with tyrosine hydroxylase immunohistochemistry staining. The rats which was made dopaminergic denervation and treated with apomorphine developed dyskinetic behaviours. The severity of this behaviours increased day by day and they were strongly and positively correlated with mean lesion volume. Low dose apomorphine induced CPP at rats with parkinsonism and CPA at normal rats. The conditioning score was moderately and positively correlated with mean ventral lesion volume. The stereotypic behaviours was attenuated at rats with dorsal predominated dopaminergic loss. Further studies are needed to find out molecular mechanisms of this findings.

Key words: Parkinson's disease, 6-OHDA, Dopamine dysregulation syndrome, Punding, rat.

This study was supported by Hacettepe University as "Fast Support Project". Project no is THD-2015-6917.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiii
I.GİRİŞ	1
II.GENEL BİLGİLER	
II.1. Parkinson hastalığında anatomopatolojik tutulum	3
II.2. Parkinson hastalığının kliniği ve klinik evreleri	9
II.3. Deneysel PH modelleri	14
II.4. Parkinson hastalığının farmakolojik tedavisi ve dopaminerjik ajanlarla ortaya çıkan motor ve motor-dışı komplikasyonlar	19
Motor komplikasyonlar	21
Motor-dışı komplikasyonlar	25
II.5. Parkinson hastalığında impulsif-kompulsif davranışlar	27
Dürtü kontrol bozuklukları	27
Dopamin disregülasyon sendromu	29
Kompleks stereotipik davranışlar	30
II.6. Parkinson hastalığı ve deneysel PH modellerinde impulsif- kompulsif davranışların mekanizmaları	32

Nöroanatomik kanıtlar	32
Deneysel modeller	33
III.GEREÇ VE YÖNTEM	38
III.1. Deney hayvanları	38
III.2. Deney grupları ve cerrahi	38
III.3. Açık alan lokomotor aktivite testi	39
III.4. Koşullandırılmış alan tercih testi	40
III.5. Steriotipi ve diskinezilerin değerlendirilmesi	41
III.6. Beyin dokusunun elde edilmesi ve immünohistokimya incelemeleri	43
III.7. Görüntülerin değerlendirilmesi	44
III.8. İstatistiksel analiz	46
IV.BULGULAR	47
IV.1. Dopaminerjik denervasyonun topografik dağılımı	47
IV.2. Locomotor aktivite değişiklikleri	50
IV.3. Apomorfine oluşturulan anormal istem dışı hareketlerin deney grupları arasında karşılaştırmalı değerlendirilmesi	50
IV.4. Apomorfine oluşturulan stereotipik davranışların deney grupları arasında karşılaştırmalı değerlendirilmesi	53
IV.5. Koşullananmış alan tercihinin gruplar arasındaki dağılımı	54

V.TARTIŞMA	57
VI.SONUÇLAR	63
VII.ÖNERİLER	64
VIII.KAYNAKLAR	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAV: Adeno ilişkili virüs

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AH: Alzheimer hastalığı

AİH: Anormal istemsiz hareketler

AUG: Artmış gündüz uykululuğu

COMT: katekol-O-metiltransferaz

CPP: Koşullandırılmış alan tercih testi, "conditioned place preference"

DA: Dopamin agonisti

DAT: Dopamin transporter

DDS: Dopamin disregülasyon sendromu

DLS: Dorsolateral striatum

DKB: Dürtü kontrol bozuklukları

DRT: Dopamin replasman tedavisi

DSM-5: Ruhsal bozuklukların tanısal ve sayımsal el kitabı-5

ek: eksternal kapsül

f MRG: fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme

HBB: Hafif bilişsel bozukluk

İKD: İmpulsif kompulsif davranışlar

İKSS: İntrakranial self stimülasyon

i.p. :intraperitoneal

LC: lokus coeruleus

L-dopa: L-3,4-dihidroksi fenilalanin

lv: Lateral ventrikül

MF:Motor fluktuasyonlar

MIBG: metiliodobenzilguanidin

MLF: Medial önbeyin demetçiği

N-metil-D-aspartat: NMDA

NMF:Non-motor fluktuasyonlar

NMS: Non-motor semptomlar

MAO-B: Monoamin oksidaz B

MPP+: 1-metil-4-fenilpiridinium

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

OD:Otozomal dominant

OR:Otozomal resesif

PBS: fosfatlı tuzlu serum fizyolojik

PET:Pozitron emisyon tomografisi

PH: Parkinson hastalığı

REM: Rapid eye movement(hızlı göz hareketleri)

REMUDB:REM uykusu davranış bozukluğu

SF: Serum fizyolojik

SN: Substansia nigra

SN_{pc}: Substansia nigra pars compacta

SPECT: Tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi

TH: Tirozin hidroksilaz

VS: Ventral striatum

VTA: Ventral tegmental alan

5-HT: 5-hidroksitriptamin

6-OHDA: 6-hidroksidopamin

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.PH'nin nöropatolojik evrelendirilmesi.

Şekil 2.2: PH'nin progresyonu

Şekil 2.3: PH'de impulsif kompulsif davranışlar

Şekil 3.1: Deney zaman çizelgesi

Şekil 3.2: Striatal dopaminerjik projeksiyonlar

Şekil 3.3: Lezyonların değerlendirilmesi

Şekil 4.1: Dorsal ağırlıklı dopaminerjik denervasyon oluşturulan denek örneği

Şekil 4.2: Ventral ağırlıklı dopaminerjik denervasyon oluşturulan denek örneği

Şekil 4.3: Yalancı lezyon oluşturulan denek örneği

Şekil 4.4 :Diskinezi skorlarının gruplar arasında tedavi süresinceki değişimi

Şekil 4.5 : Son gün diskinezi skorları ile ortalama lezyon yüzdesi arasındaki ilişki

Şekil 4.6 : Son gün stereotipi skorlarının gruplar arasındaki dağılımı

Şekil 4.7 : Gruplar arasında KS'nin dağılımı

Şekil 4.8 : KS ile ortalama ventral lezyon yüzdesi arasındaki ilişki

TABLULAR

Tablo 2.2.1: PH'de premotor özellikler.

Tablo 2.2.2: PH'de Non-motor semptomlar.

Tablo 2.5.1: DDS'nin tanı kriterleri.

Tablo 3.5.1: Creese Iversen stereotipi skalası

Tablo 3.5.2: Diskinezi skalası

Tablo 4.1.1: Deney gruplarının striatal dopaminerjik denervasyon oranları

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Parkinson Hastalığı (PH) sık görülen ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın temel özelliği olan motor belirtiler için dopaminerjik ilaçlarla veya cerrahi yöntemlerle oldukça etkin semptomatik tedavi yapılmaktadır; ancak hastalığın ileri safhalarında bu yaklaşımlar yetersiz kalmakta, eklenen motor-dışı belirtiler için de tedavi imkanları kısıtlı olmaktadır. Son yıllarda semptomatik tedavi için kullanılan ajanlardan özellikle dopamin agonistlerine (DA) bağlı olarak geliştiği düşünülen dürtü kontrol bozuklukları (DKB) ile ilgili farkındalığımız artmıştır. Tedavi seçeneklerini daha da kısıtlayan bu bozukluklar içerisinde impulsif-kompulsif davranışlar (İKD) genel çatısı altında da değerlendirilen patolojik kumar, patolojik yeme davranışı, artmış cinsel isteklilik, kontrolsüz alışveriş tabloları ve herhangi amaca uygun kompleks bir davranışın aşırı ve tekrarlayıcı bir şekilde gerçekleştirilmesi olarak tanımlanabilen “punding” sayılabilir. Hasta kadar bakım verenlere de ciddi sosyoekonomik ve psikolojik yükler getiren bu tablolar tedavi altındaki hastalarda %25'e varan yüksek oranlarda bildirilmekte [1] ve kontrol altına alınması için yeni yöntemlerin geliştirilmesi acil bir gereklilik olmaktadır. Kısa etkili DA'lar ve l-3,4-dihidroksi fenilalanin (L-dopa) kullananlarda motor belirtilerden bağımsız giderek yüksek dozda ilaç kullanma şeklinde ortaya çıkan, psikostimulan ilaç bağımlılığı ile benzer özellikler gösteren dopamin disregülasyon sendromu (DDS) parkinson hastalarının takibinde yaşanan bir diğer önemli kısıtlılıktır.

DKB ve DDS'nin önlenmesi ve tedavisinde, risk faktörlerinin bilinmesi ve bu davranışlarla ilişkili anatomik devrelerin, patogenetik değişikliklerin ortaya çıkarılması önemlidir. Bu çalışmada 6-hidroksidopamin (6-OHDA) stereotaktik enjeksiyonu ile dopaminerjik denervasyon oluşturulan sıçanlar kullanılarak, dopaminerjik denervasyonun ağırlığı ve striatumda bölgesel dağılımının (dorsolateral vs ventral vs yaygın) DKB ve DDS oluşumunda etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Literatürde, PH'de görülen DKB ve DDS ile ilişkilendirilen bazal ganglionik devreler hakkında yeterli bilgi yoktur

ve var olan bilgiler ise çelişkilidir. Parkinson model hayvanlar üzerinde yapılan kısıtlı sayıda çalışmaların bir kısmında dorsolateral striatumda dopaminerjik denervasyonun geliştiği hayvanlarda, klinik DKB ile sık ilişkilendirilen DA ajanlarından pramipeksol ile dürtüsellik geliştiği, ilacın kesilmesi ile normale döndüğü gösterilmiştir [2]. “Punding” in hayvan modeli olarak düşünülen dopaminerjik ajanlarla indüklenen stereotipik davranışların da dorsolateral striatumda erken gen ekspresyon analizleri ile ortaya konulan aktivite değişikliklerine neden olduğu gösterilmiştir [3]. Ancak PH modelinde stereotipik davranışlar çok az çalışılmış; kronik dopaminerjik tedavilerle indüklenen tekrarlayıcı davranışlar daha çok diskinezi ile ilişkilendirilmiştir [3, 4].

Diğer yandan, ilaç bağımlılığı deneylerinin genellikle hedef aldığı ödül devresi ventral tegmental alan (VTA), nucleus accumbens, prefrontal korteks, hipotalamus ve hipokampus gibi yapılardan oluşmaktadır. Devrenin temel dopamin kaynağı olan ventral tegmental alandan köken alan iki yol izole edilmiştir. Bunlar posterior VTA'dan başlayarak nucleus accumbense ve amigdalaya uzanan mezolimbik yol ve anterior VTA'dan prefrontal kortekse uzanan mezokortikal yoldur. Mezolimbik ve mezokortikal yolların sırasıyla bağımlılığın motivasyonel ve bilişsel aşamalarında rol oynadığı düşünülmektedir. Sıçanlarda bağımlılık deneylerinde sıklıkla kullanılan davranışsal model koşullandırılmış alan tercihidir (“conditioned place preference” - CPP). 6-OHDA ile bilateral posterior VTA'da dopaminerjik denervasyon yapılan çalışmalarda dopamin D2 ve D3 agonistlerinin CPP'yi arttırdığı gösterilmiştir [5]. Bir başka çalışmada ise bilateral dorsolateral striatumun yine 6-OHDA ile oluşturulmuş dopaminerjik denervasyonu ile yapılan parkinson modelinde pramipeksol ile CPP oluşturulmuştur [6].

Bu çalışmada öncelikle PH'de DDS ve DKB'nin modellenmesi ve bu davranışlarla ilişkili striatumda anatomik tutulumun ve dopaminerjik denervasyon derecesinin tanımlanması gerçekleştirilecektir. Bu verilerin DDS ve DKB ile ilişkili hücre içi mekanizmaların da aydınlatılacağı ileri çalışmalara temel oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

II. GENEL BİLGİLER

II.1. Parkinson hastalığında anatomopatolojik tutulum

PH, daha az görülen bazı genetik formları dışında, beynin belirli bölgelerinde α -sinüklein agregatlarının birikimiyle giden ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır.

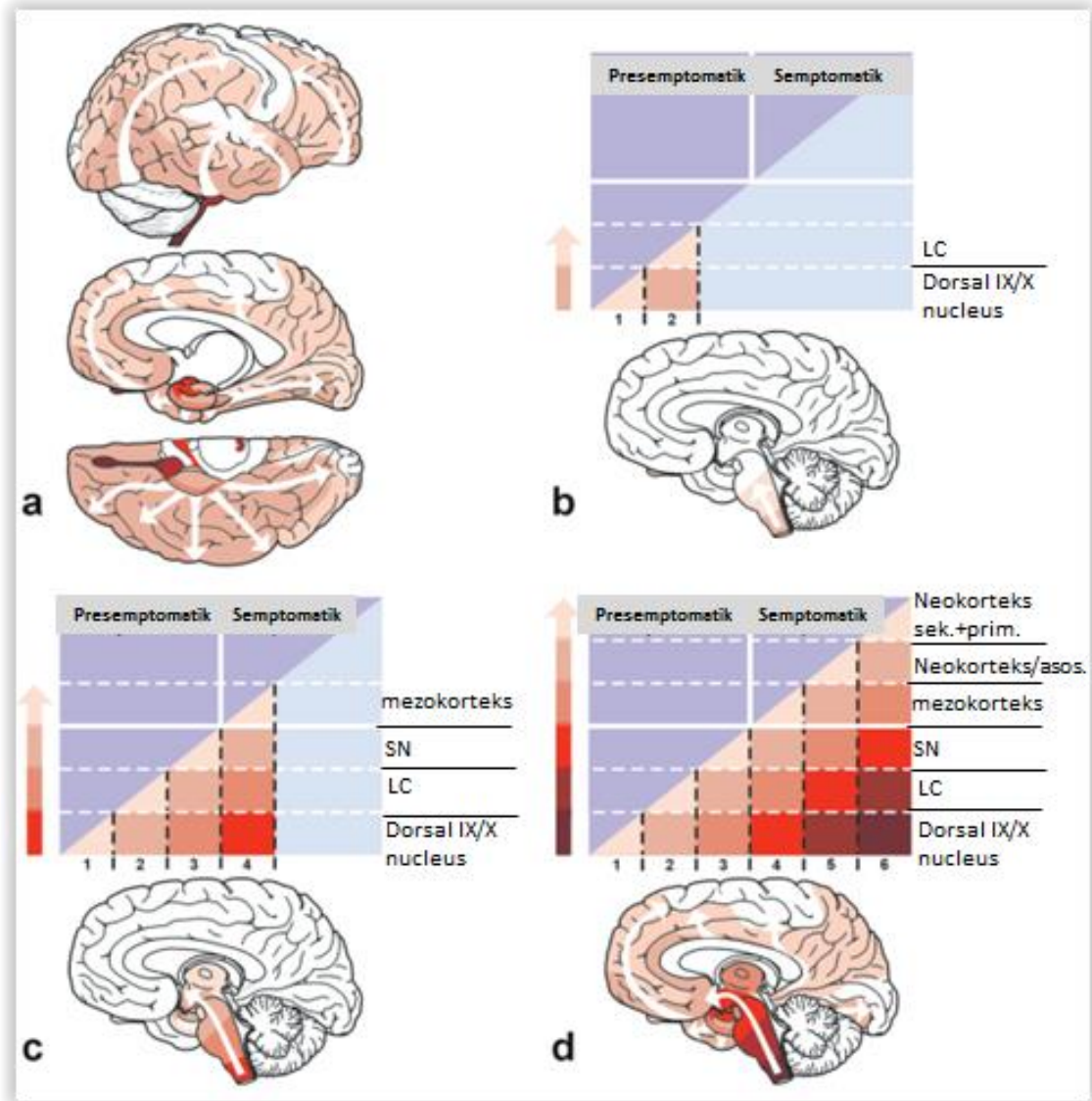
PH patolojisinde anahtar rol oynayan α -sinüklein beyinde presinaptik terminallerde yaygın olarak bulunan [7] ve sinapslarda modülasyondan sorumlu olan bir proteindir. PH'de diğer proteinlerle oluşturdukları agregatları; hücre uzantılarında iplik ya da iğ gibi görünenleri Lewy nöritleri, nöron gövdesinde punktat, soluk izlenenleri ise Lewy cisimcikleri olarak adlandırılır [8].

Lewy patolojisinin bütün nöron tiplerini tutmadığı ve özel bir topografik dağılım gösterdiği bilinmektedir. Patolojiye yatkın olan nöronlar genellikle hücre gövdesine kıyasla uzun bir aksona sahip olan projeksiyon nöronlarıdır [8]. Neokorteksin 4. tabakasında bulunan piramidal hücreler gibi kısa aksonlu projeksiyon nöronları ile yine kısa aksonu olan ara nöronlar Lewy patolojisine dirençli görünmektedir. Yatkınlığın diğer bir kriteri ise miyelinsiz aksonlara sahip olmaktır [8]. Aksonları uzun olsa bile kalın miyelin kılıfları olan nöronlarda da Lewy patolojisine daha az sıklıkla rastlanmaktadır. Miyelinin koruyuculuğunun bir nedeni olarak uzun miyelinsiz aksonlu nöronların enerji ihtiyacının daha fazla olması, daha fazla oksidatif strese maruz kalmaları sayılabilir [9]. Diğer bir neden oligodentrositlerle sarılı olan nöronun daha güçlü bir yapısal bütünlüğe sahip oluşudur [9].

PH'nin klasik nöropatolojik evrelendirilmesi Braak ve arkadaşları tarafından yapılan geniş otopsi çalışmalarına dayanmaktadır. Buna göre 6 evrede incelenen patolojinin ilerleyişinde, lezyonların dağılımının ve ciddiyetinin zaman içinde PH'ye özgü bir değişme gösterdiği kanıtlanmıştır.

İlk iki evre presemptomatik dönem olarak anılırken, üçüncü evreden itibaren hastalar PH motor semptomlarını göstermeye başlamaktadır. Braak evrelemesi Şekil 2.1’de özetlenmiştir.

Şekil 2.1.PH’nin nöropatolojik evrelendirilmesi [8].



Şekil 2.1: PH'nin nöropatolojik evrelendirilmesi. a)Patolojinin ilerleyiş yönleri oklarla belirtilmiştir. b) Presemptomatik Braak evre1-2'de patoloji yalnızca olfaktör bulbul ve medulla oblongataya sınırlıdır. c)Evre 3-4'te patoloji SN ve diğer mezensefalon yapılarına ulaşmış olur. Hastalık çoğu bireyde bu evrede semptomatiktir. d) Evre 5-6'da hastalık serebral kortekse de yayılmış ve motor bulguların yanında bilişsel ve nöropsikiyatrik bozukluklar da ortaya çıkmaya başlamıştır. LC:Lokus cerelous, SN:Substansia nigra, Asos:Tersiyer asosiyasyon korteksi, sek: sekonder asosiyasyon korteksi, prim:primer asosiyasyon korteksi. ([8]'den Türkçeye çevrilerek kullanılmıştır.)

Braak evrelemesine göre, Evre 1'de, α -sinüklein immünreaktivitesi ilk kez medulladaki dorsal vagal ve glossofaringeal motor nükleuslar, anterior olfaktör yapılar ve otonomik nöronlarda izlenmektedir. Olfaktör yapılarıdaki patolojik ilerleme non-olfaktör yapılara doğru ilerleme göstermezken, zaman içinde dorsal motor nükleustaki patoloji ilerler [9].

Evre 2'de, dorsal vagal motor nükleustaki patoloji daha belirgin hale gelir. Patoloji medullanın en alt bölümü ile sınırlı kalmadan ponttaki raphe nükleus ve retiküler formasyonun magnoselüler kısımlarına da yayılır. Lokus cerelous(LC)'ta Lewy patolojisi ilk kez izlenmeye başlanır [9].

Evre 3'te artık pontin tegmentum sınırı aşarak patoloji mezensefalona ulaşmış olur. Bu noktada halen serebral korteks tutulumu izlenmez. Amigdalanın özellikle santral subnükleusunda, tegmental pedinkülopontin nükleusta ve Meynert nükleusunda belirgin tutulum olur [9]. Bu aşamada patoloji substansia nigra pars kompakta (SNpc)'nin neredeyse bir kural olarak, ince ve zayıf miyelinli hücrelerden oluşan posterolateral nükleusundan başlayarak zaman içinde posterosuperior ve posteromedial nükleuslarına doğru ilerler [9]. Ancak nöron kaybı izlenmez. Bu evre içinde SNpc'nin diğer nükleusları olan magnoselüler ve anterior nükleuslarında belirgin tutulum beklenmez.

Evre 4'te, patoloji amigdalanın sınırlarını aşarak, birbirinde belirgin olarak ayrılabilen 6 tabakadan oluşan neokorteks ve 6'dan az tabakadan oluşan allokorteks arasında bir geçiş bölgesi olan temporal mezokortekse ulaşır. Gelişimsel olarak geç miyelinizasyonunu tamamlayan bu bölge hem PH, hem de Alzheimer Hastalığı (AH)'nda sıklıkla tutulan bölgelerden biridir [9]. Bu evrede neokortekste patolojik tutulum izlenmez.

Evre 5'e gelindiğinde temporal mezokorteks tutulumu artmış olur ve onunla ilişkili yapılardan insular korteks ve singulat kortekse patolojinin yayılmış olduğu gözlenir. Patoloji temporal neokortekse ve oradan tersiyer asosiyasyon kortekslerine de yayılım gösterir [9].

Son evre olan 6. evrede ise Lewy patolojisi sekonder ve primer kortikal bölgeler dahil beyinde yaygın bir tutulumla ulaşır.

Genetik PH formları tanımlanmaya başladıkça, hastalığın nöropatolojik tutulumuyla ilgili bilgilerimize yeni boyutlar eklenmekte aynı zamanda yeni soru işaretleri ortaya çıkmaktadır. 1997 yılında ilk tanımlanan PH ilişkili gen α -sinüklein proteinini kodlayan SNCA genidir [10]. Otozomal dominant geçişli PH'ye neden olan SNCA mutasyonları birikme eğiliminde olan α -sinüklein üretimine neden olur. SNCA mutasyonu nadirdir. Ancak keşfi Lewy cisimciklerinin ve nöritlerinin ana bileşeninin α -sinüklein olduğunun anlaşılmasına imkan vermiştir ve ilerleyen yıllarda PH'nin diğer monogenik formlarının bulunmasına giden yolu açmıştır [11]. SNCA mutasyonu olan olguların nöropatolojik incelemelerinde substansia nigra (SN) ve LC'de nöron kaybı, serebral korteks ve beyin sapında ise yaygın Lewy patolojisi gösterilmiştir [12].

Otozomal dominant (OD) PH'ye neden olan diğer genler LRRK2, VPS35, EIF4G1, DNAJC13, CHCHD2'dir. LRRK2 geni lösinden zengin protein kinaz 2 isimli, nöritlerin büyümesi, sinaptik morfogenez, membran trafiğinde görevleri olan multidomain bir proteini kodlamaktadır [11]. LRRK2 mutasyonları genetik PH'nin en sık nedenidir. Sporadik vakalarda %1, ailesel olgularda ise %4 oranında LRRK2 mutasyonu saptanmaktadır [13]. Askenazi Yahudileri gibi topluluklarda bu oranlar sırasıyla %13 ve %30'a kadar yükselebilmektedir [11]. Klinik olarak klasik PH'ye benzer tablo ortaya çıkaran bu mutasyondan etkilenmiş bireylerin otopsi incelemelerinde beyin sapında Lewy cisimcikleri izlenmekte ve nigral hücre kaybı görülebilmektedir. Bazı vakalarda ise nörofibriler yumak birikimi ve Lewy patolojisi olmaksızın SN'de nöron kaybı bildirilmiştir [12].

Otozomal dominant PH'nin diğer daha nadir olan monogenik nedenleri de klasik PH'ye benzer klinik ile tanınmaktadır. Yukarıda saydığımız bu genetik nedenlerinden sadece EIF4G1 ile ilgili patolojik kanıtlar bulunmakta ve yaygın Lewy cisimciği patolojisinin izlendiği bilinmektedir [14].

Otozomal resesif (OR) ailesel PH, OD formlarının aksine erken başlangıçlı hastalık olarak ortaya çıkmaktadır. Bu olgular genellikle yavaş gidişli, L-dopa cevabı iyi olan, distoni ve psikiyatrik atipik bulguların eşlik

edebildiği olgulardır. Parkin, DJ1 ve PINK1 OR-PH oluşturduğu kanıtlanmış genlerdir.

En sık rastlanan OR-PH, parkin mutasyonu ile ortaya çıkar (PARK2). 45 yaşından önce başlayan ailesel olguların %45'inde, sporadik olguların ise %15'inde parkin mutasyonu saptanmıştır [15]. Parkin mutasyonlu PH vakalarında yapılan ilk otopsi çalışmalarında Lewy patolojisi izlenmemiştir. Ancak SN'de dopaminerjik nöronların kaybı gösterilmiştir. Ayrıca serebral korteks ve beyin sapında nörofibriler yumaklar saptanmıştır [16]. 2005 yılında yapılan başka bir çalışmada ise SN ve LC'de Lewy patolojisi gösterilmiş, mezensefalik retiküler formasyona sınırlı olmakla beraber α -sinüklein immünreaktivitesi gösteren inklüzyon cisimciklerinin varlığı not edilmiştir [17].

2003 yılında tanımlanmış DJ1, parkin ile oluşan kliniğe benzer erken başlangıçlı OR-PH'den sorumlu genlerden bir diğeridir. Sıklığı erken başlangıçlı olgularda %1-2 civarındadır [18]. DJ1 ile oluşan hastalığın nöropatolojisine dair bilgimiz bulunmamaktadır.

PINK 1 ise OR-PH'nin ikinci en sık nedenidir. Sıklığı %1-8 arasında değişmektedir [19]. 2010 yılında yapılan otopsi çalışmasında SNpc'de nöron kaybı ile beyin sapı retiküler nükleus, SNpc ve Meynert nükleusunda Lewy cisimcikleri ve belirginleşmiş nöritler izlenmiştir. LC ve amigdalanın korunmuş olduğu farkedilmiştir [20].

Parkin, DJ-1 ve PINK 1 ortak olarak mitokondriyel sağlıktan sorumludur. Bir E3 ubiquitin ligaz olan parkin ve bir serin threonin protein kinaz olan PINK1 beraberce hasarlı mitokondrilerin kontrollü bir şekilde parçalanması olarak tanımlanabilecek mitofaji yolağında sorumludur [11]. DJ1'ın görevi henüz tam olarak açıklanamamakla beraber mitokondrileri oksidatif hasardan koruduğu düşünülmektedir [11].

Bu sayılanlar dışında aileler düzeyinde kanıtlanmış idiopatik PH patolojisine benzerliği ve X'e bağlı kalıtım özelliği ile dikkat çeken RAB39B ve biri Türk asıllı iki ailede gösterilmiş DNAJC6 da erken başlangıçlı resesif PH'nin sorumlu genleri olarak sayılabilir [11].

Klasik Braak evrelemesi kognitif yıkımın motor bulgulardan önce olduğu tipleri, prelinik yaygın olarak görülen koku duyusu kaybı, konstipasyon ve huzursuz bacak sendromunu açıklamakta yetersiz kalmaktadır. Özellikle konstipasyonun nedeninin anlaşılması yönündeki güncel çalışmalar ise heyecanlı tartışmaların önünü açmıştır. İkinci beyin olarak adlandırılan enterik sinir sisteminde α -sinüklein birikimi önceden beri biliniyordu [21], ancak bu bulgu α -sinüklein patolojisinin prion benzeri bir şekilde sinirden sinire iletilebildiğini gösteren ilk çalışmadan sonra [22] yeni bir gözle değerlendirilmeye başlandı. Enterik sinir sistemi LC patolojisini SSS'ye taşıyor olabilir mi? Konstipasyonun santral tutulumun bulgularından önce başlaması bu hipoteze klinik kanıt mı oluşturuyor şeklindeki sorulara yanıt aranmaya başlandı. Şimdiye kadar iki ayrı çalışmada [23, 24] toplam 6 hastada PH gelişmeden önce alınan enterik biyopsilerde LC patolojisi gösterildi. Ancak bunların yarısında konstipasyon şikayeti bulunmamaktaydı.

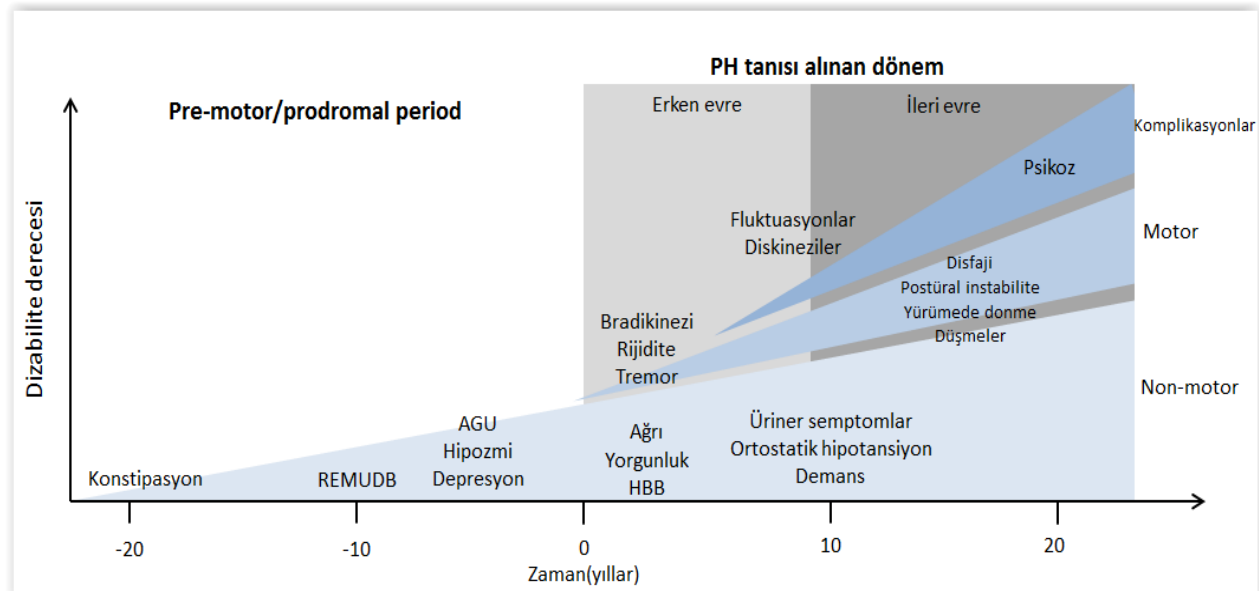
2007 yılında Hawkes ve arkadaşları tarafından PH patogenezi için çifte vuruş hipotezi ortaya atıldı [25]. Buna göre nörotropik bir patojenin nazal yolla alınması ve SSS'ye anterograd yolla taşınması ve yutulan nazal sekresyonlar aracılığıyla bağırsak epiteline ulaşarak, enterik sinir sistemi aracılığıyla retrograd olarak medullaya ulaşması bugüne kadar ulaştığımız bilgiler ışığında en uygun açıklama gibi görünmektedir. Bu hipotezin yeni kanıtlarla sınanması yönünde ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

II.2. Parkinson hastalığının kliniği ve klinik evreleri

PH klinik tanı kriterlerinde de tanımlanan ana klinik özellikler, bradikinezi, rijidite, istirahat tremoru ve postural instabilitedir. Klinik tanıda, her biri motor bozukluğu tanımlayan bu bulgulardan en az ikisinin olması beklenir [26].

Hastalığın patogenezi ve yukarıda sunulan patolojisi ile ilgili elde edilen bilgiler, PH'de tanı kriterlerine geçen motor bulgulardan önce non-motor klinik özelliklerin ve fizyolojik bozuklukların mevcut olduğu uzun bir prodromal döneminin olduğunu ortaya koymuştur. "PH riski olan sendrom" olarak tanımlanan bu dönem 4 evreden oluşmaktadır [27]. Bunlar; prediagnostik, premotor, preklinik, prefizyolojik evrelerdir. Klinik bulguları ile PH evreleri Şekil 2.1'de özetlenmiştir.

Şekil 2.1: PH'nin progresyonu [11].



Şekil 2.2.: PH'nin progresyonu. REMUDB:REM uykusu davranış bozukluğu, AGU:Artmış gündüz uykululuğu, HBB:Hafif bilişsel bozukluk. ([11]'den Türkçeye çevrilerek kullanılmıştır.)

Prediagnostik evre, klasik PH semptomları gösteren ama PH tanı kriterlerini karşılamayan hastalığın evresidir. Alzheimer hastalığındaki hafif kognitif bozukluk evresine benzetilmektedir. PH'nin diğer prodromal evrelerinin tersine, prediagnostik evrede hastalarda parkinsonizm bulguları bulunmaktadır. Dopamin transporter (DAT) görüntülemelerin yoğunlaşmasıyla prediagnostik evrenin gelecekte biyobelirteçlerle desteklenmiş klinik tablo varlığı nedeniyle hastalığın hafif başlangıç dönemi olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir [27].

Premotor evre, motor bulgular olmaksızın hastalarda koku duyusu kaybı, depresyon, gastrointestinal şikayetler ve diğer sistemik bulgular gibi non-motor semptomların olduğu dönem olarak tanımlanmaktadır [27]. Bu semptomlar evrensel olmasa da tanı öncesi PH hastalarının çoğunda bulunmaktadır. Özellikle koku duyusu kaybı [28], kabızlık [29], Hızlı göz hareketleri (Rapid eye movement-REM) uykusu davranış bozukluğu (REMUDB) [30] ve artmış gündüz uykululuğunun (AGU) [31] PH ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir. Başka bazı kognitif ve otonomik değişikliklerin de PH ile muhtemel ilişkili olduğu düşünülmektedir. Tüm bu premotor özellikler Tablo 2.2.1'de özetlenmiştir.

Tablo 2.2.1: PH'de premotor özellikler [27].

Güçlü ilişki	Muhtemel ilişki
<i>Koku duyusu kaybı</i>	<i>Diğer otonomik disfonksiyonlar(örn. kardiyak)</i>
<i>Konstipasyon</i>	<i>Görme bozuklukları</i>
<i>Uyku bozuklukları(REMUDB,AGU)</i>	<i>Kognitif değişiklikler</i>
<i>Depresyon ve anksiyete</i>	<i>Apati</i>
	<i>Yorgunluk</i>
	<i>Kişilik özellikleri</i>

Tablo 2.1:PH'de premotor özellikler. REMUDB:REM uykusu davranış bozukluğu, AGU:Artmış gündüz uykululuğu. ([27]'den Türkçeye çevrilerek kullanılmıştır.)

Prelinik PH'de, klinik bulgu vermeden ancak biyobelirteç çalışmalarıyla farkedilebilecek değişmelerin olduğu döneme verilen isimdir. Nörogörüntüleme çalışmalarından DAT tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi (SPECT) ya da (18f)-fluorodopa pozitron emisyon tomografisi (PET) yardımıyla dopaminerjik havuzda değişiklikler saptanan hastalar prelinik PH'ye örnek olarak gösterilebilir [27]. Kardiyak post-ganglionik sempatik nöronların kaybının metiliodobenzilguanidin (MIBG) SPECT'le gösterilmesi PH'nin prelinik evresinde saptanabilecek bir başka delildir [32]. Transkraniyal dopplerle yapılan görüntülemelerde PH hastalarında substansia nigra artmış ekojenite de görülmektedir [33]. Çalışmalar prelinik PH'de de bu taramanın yararını göstermiştir. Örneğin doppler ile artmış substansia nigra ekojenitesi izlenmiş normal bireylerin %60'ında 18F-dopa PET ile striatumda azalmış tutulum olduğu saptanmıştır [34]. Ayrıca PH hastalarının birinci derece yakınlarında %50 oranında substansia nigra hiperekojenitesi izlendiği bildirilmiştir [35]. PH'nin tartıştığımız anatomopatolojik yayılımıyla uyumlu olarak prelinik evrede enterik sinir pleksuslarında Lewy patolojisine rastlanabilir. Nitekim PH hastalarının geçmiş kolon biyopsilerinin tekrar incelenmesine dayanan çalışmalarda bu gösterilmiştir [23, 24].

Son olarak prefizyolojik evrede, hastanın PH'ye yönelik klinik ya da fizyolojik bulgusu bulunmamakla beraber, artmış riskin varlığından bahsedilebilir. Özellikle Parkin, LRRK2 gibi mutasyonların saptanması diğer tüm bulguların yokluğunda bile hastayı prefizyolojik evrede değerlendirmemize yetebilir. PH ile ilişkili oldukları kanıtlanan risk faktörlerinden tarım ilaçları ve diğer çevresel maruziyetler, orta yaş obezitesi, kahve ya da sigara tüketilmemesi de prefizyolojik evrenin karakteristik özelliklerini oluşturur [27].

PH tanısı alındıktan sonraki dönem erken ve geç evre PH olarak ikiye ayrılmaktadır. Klasik motor semptomlar bradikinezi, rijidite ve tremorun erken evrede dopaminerjik ilaçlara iyi yanıt gösterdiği bilinmektedir. Ancak zaman ilerledikçe dopamin replasman tedavilerine (DRT) bağlı motor ve non motor fluktuasyonlar ile diskineziler kliniğe hakim olmaya başlar. Erken evrede

tedavinin dozu ve sıklığı üzerinde değişiklikler yapılarak komplikasyonlar yönetilebilse de ileri evrede günlük hayatı etkileyen bu komplikasyonlar tabloya hakim olur. İleri evrede postüral instabilite, yürümede donma, düşmeler, disfaji ve konuşma bozuklukları gibi aksiyal motor bulgular da kliniğe eklenir. Hastalığın yaklaşık 17. yılında hastaların %80'inde yürürken donma ve düşmeler ortaya çıkmış olur, %50'si ise yutma güçlüğü çeker [36].

Üriner inkontinans, günlük laksatif ihtiyacı getiren konstipasyon, semptomatik ortostatik hipotansiyon gibi otonomik non-motor semptomlar (NMS) ileri evre PH'nın diğer özellikleridir. 2009 tarihli PRIAMO çalışmasında 1072 hastayla yapılan yarı-yapılandırılmış görüşme ve 1 yıllık takiple NMS sıklığının %98.6 olduğu saptanmıştır [37]. Tablo 2.4.1'de özetlenmiş olan bu semptomların PH'nin her evresinde olabildiği bilinmekle beraber yaşla ve hastalığın ilerleyişi ile sıklıkları artmaktadır. Yapılan çalışmalar ileri evrede NMS'lerin hayat kalitesine motor semptomlardan daha fazla etkili olduğunu ortaya koymuştur [38]. Dopaminerjik tedavinin titizlikle düzenlenmesinin bazı NMS'lerin kontrolü üstünde etkili olduğu bilinmekle beraber, halen tanınmaları ve tedavileri konusunda bilgilerimiz eksiktir.

Hastalığın 20. yılına gelindiğinde %83 olguda demans saptanmaktadır [39]. İleri evre PH'de özellikle aksiyal motor belirtiler ve non-motor semptomlar gibi tedaviye dirençli belirtiler dizabilitenin, hastane yatışının ve mortalitenin en önemli belirleyicileridir [40].

Tablo 2.2.2: PH'de Non-motor semptomlar [38].

Nöropsikiyatrik Semptomlar	Gastrointestinal semptomlar
<p><i>Depresyon, apati, anksiyete*</i></p> <p><i>Anhedoni*</i></p> <p><i>Kognitif disfonksiyon</i></p> <p><i>Dikkat eksikliği</i></p> <p><i>Halüsinasyon, ilüzyon, delüzyon</i></p> <p><i>Demans</i></p> <p><i>Konfüzyon</i></p> <p><i>Panik atak*</i></p>	<p><i>Tükrük artışı*</i></p> <p><i>Aguzi</i></p> <p><i>Disfazi, boğulma</i></p> <p><i>Reflü, kusma</i></p> <p><i>Bulantı</i></p> <p><i>Konstipasyon*</i></p> <p><i>Yetersiz mesane boşalımı*</i></p> <p><i>Gaita inkontinansı</i></p>
Uyku bozuklukları	Duyusal Semptomlar
<p><i>Huzursuz bacaklar ve periyodik ekstremite hareketleri*</i></p> <p><i>REM uykusu davranış bozukluğu*</i></p> <p><i>Non-REM ilişkili hareket bozuklukları</i></p> <p><i>Artmış gündüz uykululuk</i></p> <p><i>Canlı rüyalar</i></p> <p><i>Uykusuzluk</i></p> <p><i>Uyku ile ilişkili solunum problemleri</i></p>	<p><i>Ağrı</i></p> <p><i>-PH'ye bağlı primer ağrı(santral ağrı)*</i></p> <p><i>-Sekonder ağrılar</i></p> <p><i>-Fluktuasyonlara bağlı ağrı*</i></p> <p><i>Paresteziler</i></p> <p><i>Olfaktör yetersizlik</i></p> <p><i>Görsel disfonksiyon(Renkli görme, kontrast sensitivitesi vs.)</i></p>
Otonomik bulgular	Diğer Semptomlar
<p><i>Mesane anormallikleri</i></p> <p><i>-Sıkışma*</i></p> <p><i>-Nokturi*</i></p> <p><i>-Sıklık</i></p> <p><i>Terleme</i></p> <p><i>Erektile disfonksiyon*</i></p> <p><i>Ortostatik hipotansiyon</i></p>	<p><i>Non-motor fluktuasyonlar*</i></p> <p><i>-Otonomik semptomlar</i></p> <p><i>-Kognitif ya da psikiyatrik semptomlar</i></p> <p><i>-Ağrıyı içeren duyuşal semptomlar</i></p> <p><i>Yorgunluk*</i></p>

*Dopaminerjik tedaviye cevaplı olabilir. ([38]'den Türkçeye çevrilerek kullanılmıştır.)

II.3. Deneysel PH modelleri

1960'lı yıllarda postmortem insan beyinleri üzerine yapılan çalışmalarda PH'de kaudoputamen dopamin eksikliğinin gösterilmesi [41] ve bu eksikliğin SN'deki melanin pigmenti içeren nöronların kaybıyla açıklanması [42] PH'de ortaya çıkan motor semptomların anlaşılması yönünde büyük bir adım olmuştur. Bu keşif daha sonra dopamin eksikliğini taklit eden hayvan modelleri üzerinden yapılan çalışmalarla PH için halen en etkin tedavi olan L-dopanın kullanıma girmesinin [43] önünü açmıştır. İlerleyen yıllarda L-dopaya bağlı komplikasyonların mekanizmalarının anlaşılmasında, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde, hastalığın patogenezi ile ilgili yeni bilgilere ulaşılmada yine deneysel hayvan modelleri araştırmacılara büyük katkılar sunmuştur. Ancak gelinen noktada hala PH patogenezi, selektif tutulum gösteren, ilerleyici doğasını ve Lewy cisimciği patolojisini tam taklit eden bir model bulunmamaktadır.

İlk parkinsonizm modeli, beyinde monoamin depolarını boşaltan rezerpin ile hayvanlarda akinezi oluştuğunun gözlenmesi ile geliştirilmiştir [44]. L-dopa verilmesi bu rezerpinize hayvanlarda neredeyse anında motor belirtilerde düzelmeyi ve uyanıklıkta artışı sağlayabiliyordu [44]. Rezerpin halen bir kimyasal PH modeli olarak kullanılmaktadır. Hızlı ve kolay uygulanabilir oluşu, patolojik değişiklik oluşturmaması, geçici bulgulara yol açması, PH'de rol oynayan monoaminlerin (dopamin, noradrenalin, 5-hidroksitriptamin (5-HT) hepsinin azalmasına yol açması nedeniyle pratikte semptomatik ilaç etkilerinin izlenmesi ve yeni ilaç keşfi için yararlı bir modeldir [45]. Benzer bir kimyasal model, selektif tirozin hidroksilaz (TH) inhibitörü α -metil-p-tirozin ile oluşturulmaktadır [46]. Bu model seçici olarak dopamini azaltması dışındaki özellikleri ile rezerpin modeline benzerdir. Striatumda daha yoğun bir dopamin düşüşü sağlamak için bazen bu iki kimyasal beraber kullanılabilir [47]. Son olarak haloperidol ile oluşturulan kimyasal PH modeli, kısıtlılıkları olmakla beraber non-dopaminerjik tedavi ajanları ile ilgili yapılan çalışmalarda kullanışlı olmaktadır [48].

PH için en yaygın olarak kullanılan modeller, klasik toksin modelleri 6-OHDA ve 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrohidropiridin (MPTP)'dir.

6-OHDA, dopaminin hidrosile bir analogudur. Nigrostriatal yolaktaki dopamin hücrelerinde toksin etkisi ile nörodejenerasyon oluşturduğunun gösterilmesi [49] 6-OHDA'yı PH modellerinde en çok kullanılan ajanlardan biri yapmıştır [50]. Kan-beyin bariyerini geçemediği için beyne direk enjeksiyonu zorunludur. Bilateral lezyonları adipsi ve afaji yaptığı için yüksek denek ölüm oranına sebep olur [51]. Bu nedenle yaygın olarak unilateral lezyonları tercih edilmektedir. 6-OHDA enjeksiyonları için hedef alanlar; SN_{pc}, medial önbeyin demetçisi (MLF) ya da striatumdur. Enjeksiyonu takiben 6-OHDA dopaminerjik nöronlara DAT ile alınır. Noradrenalin transporter için de yüksek afinitesi olduğundan [52] enjeksiyondan 30-60 dakika önce bir noradrenalin transporter inhibitörü (örn. desipramin) uygulanması dopaminerjik hücelere spesifitesini artırır. Monoamin oksidaz- B (MAO-B) inhibitörleri ile ön müdahale ise toksinin yıkılma ihtimalini azaltarak potansını artırır [50]. Dopaminerjik hücelerde toksik etkisini oksidatif stres mekanizmalarını ve mitokondriyel disfonksiyonu tetikleyerek oluşturduğu gösterilmiştir [53, 54]. Bu mekanizmaların PH patogenezinden de sorumlu olduğu düşünülmekte ve bu 6-OHDA modelinin gücünü arttırmaktadır. Ne yazık ki bu toksin modelinde PH'de görülen Lewy cisimcikleri izlenmemektedir.

6-OHDA ile oluşturulan nörodejenerasyonun derecesi post-mortem incelemelerde SN'deki Nissl ya da TH boyalı hücrelerin sayılması, striatumda TH ya da DAT immünreaktivitesinin gösterilmesi ile saptanabilir [50].

6-OHDA ile %90'ın üzerinde dopaminerjik denervasyon yapılması için genellikle MFB ya da SN_{pc} enjeksiyonları seçilmektedir. Bu enjeksiyonlar sonucunda ağır ya da total diye adlandırılan >%90 denervasyon gerçekleştirildiğinde VTA'da %40 denervasyon geliştiği gösterilmiştir. Bu selektif lateral yoğun tutulum PH'ye benzerlik göstermektedir [55].

Total unilateral lezyon oluşturulan hayvanlarda denervasyon derecesi bir D1/D2 agonisti olan apomorfin enjeksiyonu ile de saptanabilmektedir.

0.01-1mg/kg dozunda apomorfine >%90 denervasyon oluşan ve buna bağlı reseptör sensitivitesinde artış saptanan lezyonlu tarafın tersine (kontrolateral) dönme hareketi oluşturmaktadır [56]. Bu %90'ın altındaki denervasyonlarda gözlenmediği için total lezyonun monitorizasyonu için selektif bir deneydir. Dopamin salınmasını tetikleme özelliği olan amfetamin enjeksiyonu ile de dönme hareketi izlenebilir. Lezyonlu tarafta daha az dopamin salınımı olacağı için, bu ajanla lezyon tarafına (ipsilateral) bir dönme beklenir [56]. Ancak %50 denervasyon amfetaminle tetiklenen dönme hareketinin oluşması için yeterli olduğundan total lezyonun oluşup oluşmadığının belirlenmesi için yararlı değildir. Ayrıca 6-OHDA'ya bağlı total denerve hayvanlarda kontralateral önbacak akinezi gelişmesi beklenir. Bu zorlu adımlama testi, silindir testi, ön ayak yerleştirme testi gibi bir dizi non-invazif test ile değerlendirilebilir [50].

PH'de motor semptomlar %60-70 dopaminerjik denervasyon geliştikten sonra ortaya çıkar. Parsiyel ya da hafif olarak adlandırılan 6-OHDA modellerinde PH'nin erken dönemlerine denk gelen bu oranlardaki denervasyon yüzdeleri hedeflenmektedir. MFB ya da SN_{pc}'ye düşük doz toksin uygulanması ya da striatuma enjeksiyon yapılması tercih edilebilir.

6-OHDA modeli L-dopa tedavisine bağlı oluşan diskineziler gibi motor komplikasyonların çalışılması için de kullanılmaktadır. Unilateral lezyonu olan hayvanlarda L-dopanın kendisine ya da DA'lara bağlı oluşan kontrolateral dönme hareketi tedavinin kronik olarak sürdürülmesiyle gittikçe artmaktadır [57]. Bu davranışsal sensitizasyon, kronik L-dopa tedavisine bağlı oluşan diskinezilerle benzer mekanizmaları paylaşmaktadır [58]. Bu alanda ilerleyen araştırmalar, sadece lokomotor dönme davranışının diskinezilerin kompleks spektrumunu karşılayamayacağı fikrinden yola çıkarak kronik dopaminerjik tedavi alan sıçanlarda ortaya çıkan bir dizi davranışı diskinezilerin tam bir hayvan modelinin oluşturulması için anormal istemsiz hareketler (AİH) başlığında sınıflandırmayı önermiştir. AİH'leri ölçmek için lokomotor diskinezi, orolingual diskinezi, axial distoni ve forelimb distoni olmak üzere dört ana davranışı değerlendiren skalalar oluşturulmuştur [4]. Daha sonraki yıllarda pek çok grup tarafından AİH skalalarının validasyonu yapılmış, 6-OHDA

modeli L-dopaya bağılı motor komplikasyonların çalışılması için kabul edilegelmiştir [50].

1982 yılında rastlantısal olarak genç madde bağımlılarında oluşan idiopatik parkinsonizmin MPTP'ye bağılı olduğunun keşfedilmesi PH için en önemli toksin modellerinden birinin geliştirilmesine olanak sağlamıştır [59]. Lipofilik bir protoksin olan MPTP sistemik enjeksiyondan sonra KBB'yi kolayca geçmekte ve MAO-B enzimi tarafından 1-metil-4-fenil-piridinium (MPP⁺) iyonuna dönüştürülmektedir. DAT aracılığı ile dopaminerjik nöronlara alınan MPP⁺ serbest oksijen radikalleri oluşumu ve mitokondrilerde birikerek mitokondriyel disfonksiyona yol açması nedeniyle PH'ye benzer mekanizmalarla bilateral nigrostriatal dejenerasyona neden olmaktadır [50]. Primatlarda ve bazı fare türlerinde etkinliği gösterilen MPTP protoksini ilginç bir şekilde sıçanlarda parkinsonizme yol amamaktadır. MPTP en etkin primat modelidir. PH'ye benzer bir şekilde sistemik enjeksiyonundan sonra SN'de VTA'ya, putamende ise kaudata göre daha ağır dejenerasyon gerçekleştirmektedir [60]. MPTP modelinin en büyük kısıtlılıklarından biri PH'deki Lewy cisimciği patolojisini oluşurmamasıdır.

MPTP'nin ve etki mekanizmalarının keşfinden sonra yeni PH modelleri oluşturulması için dikkatler mitokondriyel toksinler üzerine çevrilmiştir. İlk denenen rotenon toksini, MPTP gibi lipofilik ve kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebilen bir ajandır. Uygulanmasının ardından nigrostriatal yolakta mitokondrilerde biriktiği ve kompleks I inhibisyonuna yol açtığı gösterilmiştir [50]. PH'de olduğu gibi proteazomal inhibisyon yapması ve yaygın mikrogial aktivasyona yol açması rotenon modelinin PH patogenezi taklit edebilmesi açısından umut vaad ettiğini düşündürmektedir [50]. Ancak uygulanan sıçanların sadece yarısında dejenerasyona yol açması, ciddi intrakranial ve sistemik toksisite oluşturması gibi nedenlerle yaygın kullanıma geçememiştir [61]. Maruziyetlerinin PH insidansını arttırdığı gösterilen paraquat ve maneb toksinleri de PH modeli olarak deneniştir [62]. Ancak düşük ve selektif olmayan dopaminerjik denervasyon yapmaları, ciddi sistemik yan etkileri nedeniyle kısıtlılıkları bulunmaktadır.

Ailesel PH'ye neden olan genetik mutasyonları (α -sinüklein, LRRK2-Otozomal dominant PH; ve PINK1, Parkin, DJ1 – Otozomal resesif PH) taklit eden transgenik PH modelleri PH patogenezinde moleküler mekanizmaların araştırılması amacıyla sık kullanılan deneysel modellerdir. α -sinüklein genindeki iki farklı mutasyon (A53T ve A30P) otozomal dominant PH'ye neden olabilmektedir. A53T transgenik fare modelinde ciddi motor bulgulara ek olarak α -sinüklein birikimi patolojik olarak saptanmakta ancak dopaminerjik hücre kaybı izlenmemektedir [63]. Diğer α -sinüklein mutasyonu A30P, LRRK2, PINK1, Parkin ve DJ1 mutasyonları ile oluşturulan genetik modellerde ise değişen derecelerde hafif motor bulgular izlenmekte, nigrostriatal nöron kaybı ya da patolojik değişiklikler gelişmemektedir [64].

Son yıllarda popülerliği artan bir diğer PH modeli, lentovirüsler ve adeno-ilişkili virüsler ile (AAV) α -sinüklein aşırı ifadesinin sağlanması yoluyla oluşturulmaktadır. Viral vektörün SN'ye stereotaktik olarak enjeksiyonu gerektiği için genelde sıçanlar üzerine çalışılmıştır [65]. α -sinüklein A53T ve A30P mutasyonlarıyla oluşturulan modellerin tersine viral vektör aracılı α -sinüklein aşırı ifadesi modelinde ilerleyici, yaşa bağlı dopaminerjik nöron kaybı, motor bulgular ve sitoplazmik α -sinüklein agregatlarının oluşumu gösterilmiştir [65]. Halen araştırmacılar arası varyasyonun yüksek olmasına karşılık viral vektör aracılı α -sinüklein aşırı ifadesi modeli gelecek çalışmalar için umut vaat etmektedir.

II.4. Parkinson hastalığının farmakolojik tedavisi ve dopaminerjik ajanlarla ortaya çıkan motor ve motor-dışı komplikasyonlar

PH için kanıtlanmış nöroprotektif ya da hastalık modifiye edici bir tedavi seçeneği bulunmamaktadır [66]. Bu nedenle farmakolojik tedavi başlama kararı hastanın fonksiyonel kısıtlılık durumuna ve sosyal faktörlere dayanılarak verilmelidir [67]. Semptomatik tedavi için kullanılan altı ana ilaç grubu L-dopa, DA'lar, MAO-B inhibitörleri, antikolinerjikler, amantadin ve katekol-O-metiltransferaz (COMT) inhibitörleri olarak sayılabilir.

L-dopa PH için en etkili semptomatik ilaçtır. Özellikle bradikinezi üstünde belirgin etkinliği olup, tremor ve rijidite semptomlarının da L-dopadan fayda görmesi beklenir. Postüral instabilite L-dopaya daha az cevaplı olmaktadır. PH'de başlangıç tedavisi olarak L-dopa ya da DA'lar kullanılabilir ancak L-dopa ilişkili motor komplikasyonların erken başlangıçlı PH'de daha sık ortaya çıkması nedeniyle, klasik yaklaşımda, 60 yaşından küçük olan bireylerde başlangıç için DA'lar, 60 yaş üstünde ise L-dopa seçilmektedir [67]. L-dopanin en sık yan etkileri bulantı, uykululuk, baş dönmesi ve baş ağrısıdır. Özellikle yaşlı hastalarda konfüzyon, halüsinasyonlar, sanrılar, ajitasyon, psikoz ve ortostatik hipotansiyon gibi daha ciddi yan etkilere de neden olabilir. Ticari L-dopa preparatları genellikle karbidopa ya da benserazid gibi bir periferik dekarboksilaz inhibitörü ile beraber hazırlanmıştır. Böylelikle L-dopanin sistemik dolaşımında ve karaciğerde kan-beyin bariyerini geçmeden önce dopamine çevrilerek yan etki oluşturmasının önüne geçilmeye çalışılır.

DA'lar dopamin reseptörlerini doğrudan uyaran sentetik ajanlardır. Kullanımda olanları oral bromokriptin, pramipeksol, ropinirol, transdermal rotigotin ve enjeksiyon yoluyla kullanılan apomorfindir. DA'lar ilk olarak L-dopa cevabının azaldığı ya da L-dopaya bağlı motor komplikasyonların gelişmeye başladığı ileri evre hastalıkta ek tedavi seçeneği olarak kullanıma girmiştir. Kontrollü çalışmalarda bromokriptin, pramipeksol ve ropinirolün bu amaçla etkili ajanlar olduğu kanıtlanmıştır [68]. Daha sonra ise pramipeksol, ropinirol ve transdermal rotigotinin başlangıç tedavisi olarak etkinlikleri gösterilmiş, L-dopa başlanmasını geciktirici strateji olarak 60 yaşından önce

monoterapi olarak başlanmaları önerilir olmuştur. L-dopa cevabı olmayan hastalarda DA'ların da etkili olması beklenmez. DA grubundaki ajanların kendi aralarında etkinlikleri açısından anlamlı bir fark yoktur. DA'lar dopaminerjik motor komplikasyonlar açısından L-dopa göre daha güvenli tarafta olsalar da, L-dopaya göre artmış uykululuk, ödem, halüsinasyonlar, yürümede donma ve İKB riskiyle ilişkilendirilmiştir [67].

PH tedavisi için kullanılan MAO-B inhibitörleri selejilin ve rasajilindir. Hafif semptomları olan PH hastalarında başlangıç tedavisi olarak seçilebilir [69]. Rasajilinin geniş bir klinik çalışmada potansiyel hastalık modifiye edici etkileri olabileceği söylenmiş ancak bu veri başka çalışmalar ile desteklenmemiştir [70]. MAO-B inhibitörleri motor fluktuasyonlar üzerine pozitif etkide bulunmakla beraber diskineziler üzerine anlamlı bir etkileri olmadığı saptanmıştır [69]. MAO-B inhibitörleri bulantı ve baş ağrısına neden olabilir. Selejilin ve onun amfetamin türevi metabolitleri insomniye ve yaşlı hastalarda konfüzyona neden olabilir. Rasajilin ile İKB gelişimine ilişkin bildirimler mevcuttur [71].

Dopamin ve asetilkolin beyinde elektrokimyasal bir denge içinde bulunurlar. PH'deki dopamin yetmezliği, kolinerjik bir hipersensitiviteye neden olur dolayısıyla kolinerjik ajanlar parkinsonizmi kötüleştirirken, antikolinerjiklerin semptomatik fayda verici etkisi bulunmaktadır. Triheksifenidil, benztropin, biperiden pratikte kullanılan antikolinerjik ajanlardır. Özellikle 70 yaşından küçük, tremor dominant kliniği olan hastalarda etkinlikleri vardır. L-dopa ve diğer preparatlarla kontrol altına alınamayan tremor için ek tedavi olarak da düşünülebilir. Antikolinerjikler yaşlı ve kognitif kusuru olan hastalarda, hafıza kaybı, konfüzyon ve halüsinasyonlara neden olma riskleri nedeniyle kullanılmamalıdır. Periferik antimuskarinik etkilerine bağlı ağız ve cilt kuruluğu, kabızlık, bulantı, idrar retansiyonu ve taşikardiye neden olabilirler. Bilinen prostat hipertrofisi ve kapalı-açılı glokomu olan hastalarda kullanılmamalıdır.

Amantadin, hafif antiparkinson etkileri keşfedilmiş antiviral bir ajandır [72]. Etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber dopamin salınımını arttırdığı, dopamin gerilimini inhibe ettiği, dopamin reseptörlerini uyardığı ve

santral antikolinergik etkileri olduğu düşünülür [73]. N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antogonizması yaptığı için bazal ganglionlarda artmış glutamat nörotransmisyonunu azalttığına dair kanıtlar mevcuttur [73]. Amantadin hafif hastalıkta başlangıç tedavisi olarak bradikinezi, tremor ve rijidite üzerinde etkilidir [72]. Rijidite ve bradikinezi üzerindeki etkinliği antikolinergiklerle kıyaslandığında daha iyidir. L-dopa tedavisine bağlı motor komplikasyonlar üzerinde ek ajan olarak başlandığında anlamlı etkisi olduğu [74], ayrıca amantadin kesilmesiyle motor komplikasyonların belirgin kötüleşme gösterdiği kanıtlanmıştır [75]. Periferik yan etkileri olan livedo retükularis ve bilek ödemi nadiren tedaviyi kısıtlayacak kadar şiddetli olur. Özellikle yaşlı hastalarda diğer antiparkinson ilaçlarla kullanıldığında nadiren konfüzyon, halüsinasyon ve kabus görmeye neden olabilir.

COMT inhibitörlerinden tolkapon santral etkili ve entekapon periferik etkilidir. Yalnız başlarına, ya da motor komplikasyonları olmayan hastalarda L-dopaya eklenmeleri klinik anlamlı değişiklik sağlamaz. Özellikle L-dopaya bağlı doz sonu kötüleşmesi üzerinde etkili oldukları için motor komplikasyonların yönetiminde ek tedavi olarak seçilebilen ajanlardır [76]. COMT inhibitörleri dopaminerjik stimülasyonu arttırmalarına bağlı olarak diskinezi, halüsinasyon, konfüzyon, bulantı ve ortostatik hipotansiyona neden olabilir. %5 hastada tedaviye dirençli ishal kullanımını sınırlayabilir. Sık görülen benign bir yan etkisi de idrar renginde koyulaşmadır. Tolkapon ciddi hepatotoksisite riski nedeniyle başlandıktan sonra 6 ay karaciğer enzimlerinin monitorizasyonu ile kullanılmaktadır.

PH tedavisi için kullanılabilen diğer ajanlar ise kısaca, motor komplikasyonları olan post-menapozal kadınlarda düşük doz östrojen [77], tedaviye dirençli tremor için klozapin, psikoz için atipik antipsikotikler olarak sayılabilir [67]. Geniş non-motor semptom yelpazesi için uygun semptomatik tedavi hasta özelinde değerlendirilerek seçilmelidir.

Motor komplikasyonlar

L-dopa tedavisi altında beşinci yılın sonunda hastaların yarısında motor komplikasyonlar gelişmektedir [78]. “Wearing off” fenomeni, ON-OFF

dönemleri gibi MF'ler ve diskineziler motor komplikasyonlar başlığı altında incelenmektedir.

L-dopa ile tedavinin ilk 2-5 yılı balayı dönemi olarak adlandırılır. Hastalar L-dopa tedavisi ile gün içinde değişmeyen, bir dozun atlanmasıyla bozulmayan bir fayda görürler, geceleri genelde rahat geçirirler. Ancak bu dönemin geride bırakılmasıyla gün içinde kaotik MF'lerin yaşandığı, diskinezilerin günlük hayat aktivitelerini zorlaştırdığı kaçınılmaz dönem gelir [79].

Motor komplikasyonlar için risk faktörleri erken hastalık başlangıç yaşı, yüksek L-dopa günlük dozu kullanımı ve genetik faktörlerdir. İlk çalışmalarda L-dopa tedavisinin süresinin de motor komplikasyonlar ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Ancak 2014 yılında Gana'da PH ilaçlarına ulaşımı daha zor olan bir hasta popülasyonunda yapılan geniş bir çalışmada L-dopa tedavisinin süresinin değil, hastalık süresinin ve günlük L-dopa dozunun motor komplikasyonların gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [80]. Norveç'ten gelen güncel bir prospektif kohortta da günlük L-dopa dozu ve erken başlangıçlı hastalık motor komplikasyonlarla ilişkili bulunmuş ancak L-dopa tedavisinin süresinin etkisi gösterilememiştir [78]. Genetik faktörlerden D2 reseptör geninin bazı polimorfizmleri motor komplikasyon gelişme riskini azaltmaktadır [81]. Ayrıca DAT genindeki ve striatumda bulunan D2 reseptörünü inhibe ettiği düşünülen Adenozin A2A genindeki polimorfizmler artmış risk ile beraberlik göstermektedirler [82, 83]. Son olarak L-dopa ile tetiklenmiş diskineziler kadınlarda erkeklere oranla 3 kat daha fazladır [78, 84].

MF'leri ayrıntılı tanımlayacak olursak; (1) Wearing off fenomeni, hastaların L-dopa dozlarından fayda gördükleri sürenin gittikçe kısalması ile açıklanır, balayı döneminde tek doz saatlerce etkili olurken hastalığın ilerlemesi ile bu süre 1-2 saate kadar geriler. (2) Gecikmiş on fenomeni, ilaç dozlarından sonra klinik iyileşmenin ortaya çıkmasına kadar geçen sürenin gittikçe azalmasıdır. MF dönemi ilk başladığında 5-20 dk kadar olabilen bu süre, ilerleyen aşamalarda 30-90dk'yı bulabilmektedir. (3) No-on fenomeni, bir dozun herhangi bir klinik etki oluşturmamasıyla açıklanır, genellikle

öngörülemmez. (4) Parsiyel on, ilaç dozundan beklenen klinik yararın ortaya çıkmamasıdır. (5) Beklenmedik off, on-off fenomeni, genellikle hastanın başarılı bir on dönemindeyle aniden, öngörülemmez şekilde off dönemine girmesidir. Bu beklenmedik "off"lara ağır sempatik overaktivite eşlik edebilir. Dakikalar-saatler sürebilen bu dönem genellikle ek doz ihtiyacı ortaya çıkarır [79].

Diskineziler, koreik, balistik, distonik veya miyoklonik karakterde olabilen istemsiz hareketlerdir. İlk olarak PH'den en çok etkilenmiş tarafta ayakta başlar. Bu PH'de ventrolateral SN tarafından inerve edilen dorsolateral striatumda erken dönemde dopaminerjik denervasyon geliştiği bilgisiyle uyumludur, ki bu bölge somatotropik olarak ayak bölgesidir [85].

Diskineziler, tepe dozu diskinezileri, difazik diskineziler ve kare dalga diskinezileri olarak sınıflandırılmaktadır. En sık rastlanılan diskineziler, tepe dozu diskinezileridir. Ekstremiteler, baş, gövde ve nadiren solunum kaslarının stereotipik, koreik ya da balistik istemsiz hareketleri ile karakterizedir [86]. Difazik diskineziler hastaların %15-20 kadarında meydana gelir [86]. Diskinetik hareketlerin ilaç dozundan sonra klinik iyileşme ortaya çıkmadan başlayıp, on döneminde sona erip, ilaç sonunda net off dönemi başlamadan tekrar ortaya çıkması ile karakterizedir. Kare dalga diskinezileri ise L-dopa etkisi boyunca devam ederler [87].

L-dopa ilişkili distoniler genelde ilacın dozunun yükseldiği ya da düştüğü zamanlarda ortaya çıkar. PH'de en sık distoni, sabahları ya da nokturnal olarak ortaya çıkan ağrılı ayak kramplarıdır. Bazı vakalarda ayak distonisi başlangıç semptomu olabilir, erken başlangıçlı, erkek vakalarda bu kliniğin parkin mutasyonu ile ilişkili olduğu bilinmektedir [88]. Distoni on döneminde diskinezilerle beraber de ortaya çıkabilir.

Motor komplikasyonların patogenezinde rol oynayan temel faktör nigrostriatal hücre dejenerasyonuna bağlı dopaminerjik denervasyondur. Denervasyonun şiddeti, ne kadar süre ve hangi dozda L-dopa kullanımı sonrasında diskinezilerin ortaya çıkacağını belirleyen unsurdur [89]. Bununla paralel olarak sağlıklı insanlarda ve maymunlarda farmakolojik dozlarda L-

dopa verilmesiyle diskinezi ortaya çıkmaz [90, 91]. Ancak normal maymunlarda yüksek doz L-dopa verilmesinden sonra diskinezi gelişebildiği gösterilmiştir [92].

Plazma ömrü kısa olan L-dopanın, gastrointestinal sistemden de kararsız bir şekilde emilmesi nedeniyle plazmadaki düzeyi dalgalanma göstermektedir [93]. Hastalığın balayı döneminde halen yeterli sayıda olan dopaminerjik terminallerde veziküller içinde deponabiliyor oluşu, uyarı akışının plazma L-dopa düzeyinin gösterdiği belirgin pulsatiliteden etkilenmemesini sağlayabilir [89]. Ancak denervasyonun ilerleyişi ile bu başarılmaz hale gelir. Normal fizyolojik koşullarda striatumun sürekli dopaminerjik uyarım altında bulunduğu düşünülerek, bu pulsatilitenin striatal devrelerin çıktılarını etkileyerek diskinezilerin gelişimini yol açtığı öne sürülmektedir [94]. Yapılan çalışmalarda uzun etkili oral ajanların kullanılmasının [95] ve L-dopanın sürekli infüzyon şeklinde uygulanmasının [96] diskinezi oluşumunu geciktirmesi bu hipotezi desteklemektedir.

PH'de dışarıdan alınan L-dopanın dekarboksilasyonu dopaminerjik terminallerin kaybı nedeniyle nondopaminerjik hücreler tarafından gerçekleştirilmekte ancak o hücrelerde veziküllerde depolanmadığı için fizyolojik durum taklit edilememektedir. Bunun sonucunda tek bir L-dopa sonucunda yüksek doz dopamin üretilmekte, kısa süre içinde yıkılmakta ve etki sürdürülememektedir. PH hastalarından motor komplikasyonları olan ve olmayan iki grubun beyinlerinin post-mortem olarak incelendiği bir çalışmada, gruplar arasında dopamin azalmasının düzeyi açısından fark bulunmadığı halde, doz sonu kötüleşmesi olan grupta homovalinik asit/dopamin oranları daha yüksek saptanmıştır. Bu durum dopamin döngüsünün hızlanması ve presinaptik dopamin depolanmasının azalması ile ilişkilendirilmiştir [97].

Striatal dopaminerjik reseptörlerde fizyolojik olmayan bu pulsatil uyarıma bağlı olarak post sinaptik değişiklikler gelişebilmektedir [98]. Ayrıca kronik L-dopa tedavisi, kendisinin striatal dekarboksilasyonu için gerekli kofaktörleri tüketmekte ve kendi etkinliğini sınırlamaktadır [79].

Santral etkilerin yanında PH'ye bağılı periferik otonomik disfonksiyona sekonder gecikmiş gastrik boşalma ve nötral bir aminoasit olan L-dopanin, özellikle proteinden zengin bir diyetten sonra bağırsak kan ve KBB'de geçişi için diğer aminoasitlerle yarışması emilimini zorlaştırmaktadır [79]. Bu periferik nedenler de L-dopa plazma düzeyinin dalgalı seyir göstermesine katkıda bulunmaktadır.

Motor-dışı komplikasyonlar

PH'de dopaminerjik tedaviye bağılı olarak ortaya çıkan non-motor komplikasyonlar non-motor fluktuasyonlar (NMF) , ilaçla tetiklenen psikoz tablosu ve impulsif-kompulsif davranışlardır. İKD bir sonraki bölümde ayrıntılı olarak tartışılacaktır.

Kronik dopaminerjik tedavi altında NMS'ler dalgalı bir seyir izlemeye başlayabilmektedir. Bu non-motor fluktuasyonlar (NMF) olarak adlandırılan durum ilk kez 1976 yılında tanımlanmıştır [99]. Tanımlandıktan sonra MF'lere üçte iki oranında ruh hali değişikliklerinin de eşlik ettiği farkedilmiştir. NMF'ler otonomik, nöropsikiyatrik ve ağrı/duyusal yakınmalarla ilişkili olarak 3 ana başlığa ayrılmıştır [100]. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda L-dopa sürekli infüzyonu ile emosyonel durum arasında doza bağımlı bir ilişki olduğu keşfedilmiştir [101]. Başka bir çalışmada ise motor belirtilerin ağırlığı ve ruh hali arasında saptanan uyumsuzluk sanılanın aksine NMF'lerin MF'lerin birer yansımaları olduğu kanısını sarsmıştır [102].

NMF'lerin, MF yaşayan PH hastaların seyirinde, birbirinden ayrı çalışmalarda %17 ila %100 arasında değişen sıklıkta yaşandığı bildirilmiştir [100]. NMF'ler OFF döneminde ON dönemine göre daha sık ortaya çıkar [103]. Ancak MF'lerden bağımsız olarak da ortaya çıkabilecekleri unutulmamalıdır. NMS için risk faktörleri erken tanı yaşı, uzun ve daha yüksek dozlarda L-dopa kullanımı ve kadın cinsiyettir [100]. NMF'lerin patofizyolojisi konusunda az şey bilinmekle beraber dopaminerjik nöron kaybına sekonder endojen dopamin üretiminde azalma ve presinaptik dopamin depolarında yetersizlik gelişmesi nedeniyle, sinapstaki dopaminin kan L-dopa düzeyine göre öngörülemez fluktuasyonlar göstermesi ve bunlar

sonucunda oluşan post sinaptik değişikliklere bağlanmaktadır. Her zaman MF'ler ile aynı zamanda olmamaları altta yatan başka mekanizmaların varlığı konusunda şüphe uyandırmaktadır.

Nöropsikiyatrik NMF'ler depresyon, anksiyete, apati, kognitif disfonksiyon ve yorgunluk yaşam kalitesinde belirgin etkilenmeye neden olmaları ve hastalık seyrinde sık olmaları nedeniyle önem arz etmektedir. Yapılan çalışmalar nöropsikiyatrik NMF'lerin limbik ve asosiyasyon alanlarındaki dopaminerjik denervasyona bağlı olduğunu ortaya koymaktadır [100]. Otonomik bozuklukluk, ağrı ile ilgili yaygın şikayetler ve uyku bozuklukları olarak da ortaya çıkan NMF'ler, NMS'lerin aksine dopaminerjik tedavinin düzenlenmesinden fayda gördükleri için erken tanınmalı ve tedavi edilmelidir.

Kronik dopaminerjik tedaviye bağlı bir diğer non-motor komplikasyon psikozdur. Genelde yakınlarda birinin var olduğunu hissetme ve periferik görme alanından birinini geçtiğini düşünme şeklinde halüsinasyonlar olarak ortaya çıkar. Ancak iyi organize olmuş görsel halüsinasyonlar ve daha nadir olarak işitsel, olfaktör ve taktil halüsinasyonlar, sanrılar ve ilüzyonları içeren bir psikotik tablo olarak da kliniğe yansiyabilir [11].

Hastane yatışı bazlı serilerde PH'de görsel halüsinasyonların sıklığı %40 olarak saptanmıştır [104]. Yaş, kognitif disfonksiyon, depresyon, hastalığın süresi ve şiddeti psikotik bulgular için risk faktörlerini oluşturmaktadır [105]. PH tedavisinde kullanılan başat ilaç gruplarının hepsi ile psikoz gelişimi bildirilmiştir ancak en sık dopamin agonistlerine bağlı olarak ortaya çıkar. Erken ilaç ilişkili psikoz DA ile tedavi edilen hastalarda %16 sıklığında saptanmaktadır ve hastalığın ilerleyen dönemlerinde demans gelişimi riski ile ilişkilendirilmiştir [106].

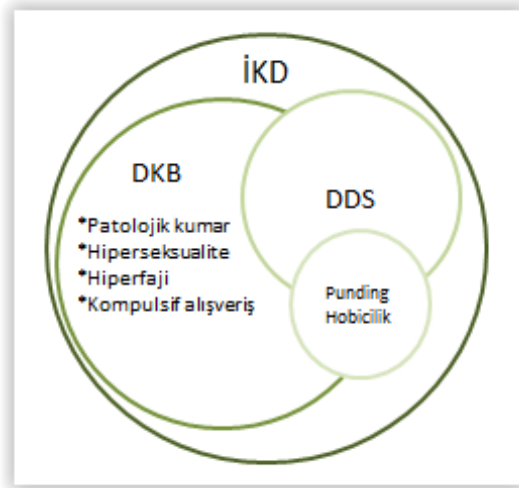
PH'de psikotik bulguların tedavisinde parkinsonizm bulgularını kötüleştirme riskleri nedeniyle tipik antipsikotiklerden uzak durulmalıdır. Atipik antipsikotikler, polifarmasiden kaçınılması ve potansiyel tetikleyicilerin belirlenip kontrol altına alınması güncel tedavide izlenen basamakları oluşturmaktadır [105]. Klinikte demansı da olan psikotik belirtiler gösteren PH

hastalarında kolinesteraz inhibitörlerinin etkinliğini destekleyen bildirimler mevcuttur [107].

II.5. Parkinson hastalığında impulsif-kompulsif davranışlar

İKD PH'de DRT'ye bağlı ortaya çıktığı düşünülen heterojen bir grup klinik durumu anlatmaktadır. DKB, DDS ve kompleks stereotipik davranışlar (punding) alt başlıklarında aşağıda incelenmiştir. Aralarındaki ilişki şekil 2.3'te özetlenmiştir.

Şekil 2.3: PH'de impulsif-kompulsif davranışlar [108].



Şekil 2.3: PH'de impulsif-kompulsif davranışlar. İKD:İmpulsif-kompulsif davranışlar, DKB:Dürtü kontrol bozuklukları, DDS:Dopamin disregulasyon sendromu. ([108]'dan Türkçeye çevrilerek kullanılmıştır)

Dürtü kontrol bozuklukları

DKB, günlük hayat fonksiyonlarını etkileyecek kadar, tekrarlayıcı, aşırı ve kompulsif olarak yapılan davranışlardan oluşur [109]. DKB, ilaç bağımlılığı ile benzer risk faktörlerini, kliniği, kognitif değişiklikleri, nörobiyolojik nedenleri ve tedavi yöntemlerini içerdiği için davranışsal bağımlılık olarak adlandırılmaktadır. Güncel bilgilerimiz PH hastalarının dört majör DKB grubu olan patolojik kumar, patolojik yeme, patolojik alışveriş ve artmış cinsel isteklilik davranışlarını geliştirmeye bir yatkınlığı olduğunu göstermektedir [110]. DKB'nin PH hastalarında artmış fonksiyonel kayıp, hayat kalitesinde

azalma ve bakımveren yükünde artma ile ilişkili olması gittikçe daha fazla önemsenmesine yol açmaktadır [109].

Patolojik kumar ve tıkanırcasına yeme bozukluğu ruhsal bozuklukların tanısız ve sayımsız el kitabı-5 (DSM-5)'te yerini almıştır. Patolojik alışveriş ve artmış cinsel isteklilik için ise formal tanı kriterleri olmamasına rağmen bu dört bozukluk PH hastaları için DKB başlığı altında beraber incelenmektedir. Bu davranışların hem impulsif (sağduyu ya da olayların sonuçlarını değerlendirebilme eksikliği) hem de kompulsif (öz-kontrol kurulamayan tekrarlayıcı davranışlar) yönleri vardır [109].

DSM-5'te patolojik kumar ve ilişkili bozukluklar, tipik olarak zevk verici ancak aşırı olması nedeniyle kişiye ya da çevresine zararlı bir aktiviteyi yapma dürtüsüne karşı koyamamak olarak tanımlanmıştır. Tanımla paralel olarak PH'de DKB, günlük hayata ya da sosyal ilişkilere zarar veren düzeye ulaştığında patolojik olarak kabul edilmektedir.

PH'de DKB'lerin sıklığı ile ilgili 2010 yılında yayınlanan çok merkezli bir çalışmanın sonuçlarına göre tedavi alan hastaların %13.6'sında en az bir DKB davranışı saptanmıştır [111]. Bu incelenen popülasyonda patolojik kumarın sıklığı %5, artmış cinsel istekliliğin %3.5, kontrolsüz alışverişin %5.7, tıkanırcasına yeme bozukluğunun ise %4.3 olarak bildirilmiştir. %3.9 gibi bir oranda iki ya da daha fazla DKB birliktelik göstermektedir. 2011 yılında yapılmış başka bir çalışmada ise minimal tedavi edici dozda DA alan PH hastalarında DKB sıklığı %25'e kadar çıkabilmektedir [1].

Genel popülasyonda ve Parkinson hastaları arasında impulsif-kompulsif semptomların sıklığını belirlemek için yapılan çalışmalarda PH'nin kendisinin mi dopaminerjik tedavinin mi sıklığı belirlediğinin sonucu etkilememesi için yeni tanı almış, ilaç almamış PH hastaları seçilmiştir. Yayınlanan ilk çalışmada yeni tanı PH hastaları anketlerde %18 oranında impulsif-kompulsif semptomların varlığını belirtmişler ve bu oran sağlıklı kontrollerle benzer olarak saptanmıştır [112].

Yukarıdaki bulguyla paralel olarak pek çok çalışma DRT'nin DKB oluşumu için risk faktörü olduğunu desteklemektedir. Özellikle DA kullanımı

DKB gelişme riskini 2-3.5 kat arttırmaktadır [111]. En sık kullanılan DA'lardan ropinirol ve pramipeksol arasında DKB gelişme riski açısından anlamlı fark saptanmamıştır [111]. Yüksek dozda L-dopa ve amantadin de DKB gelişimi için risk oluşturmaktadır.

DKB'nin insidansını inceleyen bir çalışmada 46 DA ile tedavi edilen PH hastasının %39'unda takipte DKB geliştiği bildirilmiştir [113]. DKB gelişimi için geçen ortalama süre 23 ay olarak saptanmıştır. DKB geliştiren hastalarda daha yüksek oranda motor komplikasyonlar izlenmiş, bu hastaların başlangıçta kafein kullanma oranları ve hayat boyu sigara tüketimi oranları daha yüksek bulunmuş ve DA tepe dozlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

DKB gelişimi açısından çeşitli çalışmalarda saptanan diğer risk faktörleri ise hastanın kendisinin ya da ailesinin patolojik kumar ya da alkolizm geçmişi oluşu, hastanın impulsif ya da yenilik arayışına yatkın kişilik yapısında olması, erken yaş, erkek cinsiyet, erken başlangıçlı PH, bekar olmak ve halen ya da geçmişte sigara tüketimi olması sayılabilir [110, 111].

Dopamin disregülasyon sendromu

DDS, hastaların uygun olmayan yüksek dozlarda dopaminerjik medikasyonlarını aldığı, ilaç bağımlılığına benzer bir klinikdir. DDS'de alınan dopaminerjik ilaçlar genellikle L-dopa ile yüksek potanslı-hızlı etki gösteren özellikle subkutan apomorfine gibi DA'lardır [114]. Hastalar uygunsuz ilaç ihtiyaçlarını rasyonalize etmek için ilaçların etkisizliğinden yakınabilirler, özellikle "off" döneminde yaşadıkları negatif afektif duruma vurgu yapabilirler. Hastaların küçük bir grubu ilaçla beraber ruh hali yükselmesi yaşadığını bildirmektedir. DDS ilerledikçe hastalar zamanlarının çoğunu karmaşık ve sık ilaç alım döngülerine göre düzenlemeye başlarlar. Klinisyenlerin ilacı kesmeye yönelik girişimleri genellikle ciddi bir dirençle karşılaşılır [115]. DDS'nin tanı kriterleri tablo 2.5.1'de özetlenmiştir.

PH popülasyonunda DDS prevalansı 2000 tarihli bir çalışmada %4.1 olarak saptanmıştır [114]. İtalya'da yapılan 2005 tarihli başka bir çalışmada da buna paralel olarak %3.4 olarak bildirilmiştir [116].

DDS gelişimi için risk faktörleri, erken başlangıçlı hastalık, daha çok depresif semptom varlığı, alkol kullanımı ve yenilik arayıcı karakter özellikleri taşınmasıdır [117].

Tablo 2.5.1:DDS'nin tanı kriterleri ([114]'dan Türkçeye çevrilerek kullanılmıştır)

Tanı kriterleri
*L-dopa cevabı kanıtlanmış PH
*Parkinsonizm bulguları için normal olarak gerekenden giderek artan dozda DTR ihtiyacı olması
*Patolojik kullanım paternlerinin izlenmesi(Belirgin diskinezilerle giden “on” döneminde olunmasına rağmen ilaç alma, ilaç istifleme, ilaç arama davranışı, DRT'nin azaltılmasına direnç, ağırlı distonilerin olmayışı)
*Sosyal ya da mesleki fonksiyonların etkilenmesi
*DRT ile ilişkili hipomanik , manik ya da siklotimik afektif sendrom gelişmesi
*DRT'nin azaltılması ile disfori, depresyon, irritabilite ve anksiyete ile karakterize çekilme sendromu gelişmesi
*Semptomların 6 aydan uzun süredir var olması

Kompleks stereotipik davranışlar

“Punding”, kompleks, aşırı, amaçsız, tekrarlayıcı hareketlerle giden stereotipik davranışlar bütününe verilen isimdir. Bu davranışlar genellikle teknik aletlerin tekrarlayıcı manüpülasyonları, biriktirme, istifleme, günlük objeleri tekrar tekrar inceleme, düzenleme, amaçsızca araba sürme ya da ortalarda gezinme, herhangi bir bağlamdan kopuk uzun dialoglara girme şekillerinde ortaya çıkar [118].

İlk kez amfetamin bağımlılarında ortaya konmuş olup [119] en sık nedenleri psikostimulan bağımlılığı ve PH'de dopamin replasman terapisi almaktır. Literatürde vaka düzeyinde beyin sapı enfarktı, demans ve bipolar bozuklukta da ortaya çıkabildiği bildirilmiştir. Ayrıca huzursuz bacak

sendromu ve prolaktinoma gibi tedavisinde DA'ların kullanıldığı hastalıklarda da PH olmaksızın ortaya çıkabilmektedir.

“Punding” davranışları genellikle hastaların işleri ya da önceki ilgi alanları ile bağlantılı olmaktadır [114]. Örneğin bir terzi düğme biriktirebilmekte, bir ressam sürekli karalamalar yaparak zaman geçirebilmektedir. Çoğu hasta aşırılığın farkında olduğunu ancak devam etmenin kaçınılmaz olduğunu bildirmektedir. “Punding” sosyal izolasyon, aile ilişkilerinin etkilenmesi ve ciddi uyku deprivasyonuna neden olabilir [114].

“Punding”in prevelansı ile ilgili kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. 2004 yılında Evans ve arkadaşlarının yüksek doz L-dopa (>800mg/gün) kullanan bir PH grubunda yaptıkları değerlendirmede “punding” sıklığı %14 olarak saptanmıştır [118]. Bu grubun yaklaşık %60'ının kompulsif ilaç kullanımı öyküsü verdiği kaydedilmiştir. “Punding”i olan ve olmayan grup arasında yaş, cinsiyet ve PH ciddiyeti açısından farklılık saptanmamıştır. Kanada'da yapılan başka bir çalışmada ise “punding” prevelansı %1.4 olarak ölçülmüştür [120]. Yazarlar bu düşük prevelansı 2004 tarihli çalışmada yüksek doz L-dopa kullananların seçilmiş olmasına bağlamıştır.

Yapılan çalışmalar “punding” ciddiyeti ile diskinezilerin ciddiyeti arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur [121]. Ayrıca “punding”i olanlarda olmayanlara göre diskinezi olma prevelansı %52.8 artmış olarak bulunmuştur [122]. 2010 yılında ise tekrarlayıcı davranışların dopaminerjik tedavinin kendine özgü bir yan etkisi olduğu, doz ya da tedavi süresi bağımlı bir fenomen olmadığı kabul edilmesi gerektiğini tartışan görüşler ortaya atılmıştır [123]. “Punding”in bağımsız prediktif faktörleri artmış dürtüsellik, hastalıkla ilişkili hayat kalitesi düşüklüğü, erken PH başlangıç yaşı, günlük yüksek doz DA kullanımı olarak sayılabilir [123].

II.6. Parkinson hastalığı ve deneysel PH modellerinde impulsif-kompulsif davranışların mekanizmaları

Nöroanatomik kanıtlar

İKD'lerin oluşma mekanizmaları ile ilgili güncel bilgilerimiz sınırlıdır. İnsanlarda c-raclopride'in işaretleyici olarak kullanıldığı PET çalışmalarında İKD'leri olan PH hastalarında olmayanlara göre, davranışsal bağımlılıkları ile ilişkili ipuçları gösterildiğinde ventral striatal dopamin salınımının artmış olduğu gösterilmiştir [124]. Yine başka bir PET çalışmasında L-dopaya bağlı dopamin salınımının DDS'si olan hastalarda olmayanlara göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada bu artmış dopamin uyarımı, hastaların kendilerinin bildirdiği kompulsif ilaç isteme hissi ile ilişkili bulunmuştur [125]. Bütün bu PET çalışmalarından gelen kanıtlar İKD'lerin ventral striatumda pozitif stimullara dopamin bağımlı bir sensitizasyon gelişmesi nedeniyle oluştuğu savını desteklemektedir. Bu durum bağımlılık teorileriyle paralellik göstermektedir. Yapılan bir fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRG) çalışmasında yine bağımlılıkta görüldüğüne benzer bir şekilde İKD'leri olan PH hastalarında, ipucuya bağımlı olarak ventral striatum ve anterior singulat korteksi de içine alan geniş bir beyin alanında aktivasyon izlenmektedir [126].

Ventral striatal devrelerin sensitizasyonunun yanında İKD'lerin oluşum mekanizmasında dürtü kontrolü, risk değerlendirme ve yürütücü işlevlerden sorumlu frontokortikal devrelerin etkilenmesi de sorumlu tutulmaktadır [127].

Psikiyatri literatüründen öğrendiğimiz obsesif kompulsif bozukluk, ilaç bağımlılığı ve DKB monoaminerjik, glutamaterjik ve opioidderjik sistemlerin disfonksiyonu ile yakından ilişkilidir. Özellikle serotonerjik ve noradrenerjik sistemler sorumlu tutulmaktadır. PH'de sadece nigral dopaminerjik değil bu sistemlerin de etkilendiği bilinmektedir; ve İKD'lerin oluşumuna katkıda buldukları düşünülebilir. Ayrıca DRT'ye bağlı diskineziler de bu patofizyolojik mekanizmayla oluşmaktadır. Ancak ilaç başlanan hastaların neredeyse tamamında diskineziler ortaya çıkarken İKD'lerin küçük bir PH popülasyonunu etkilemesi bu kompleks davranışsal yanıtların ortaya çıkması

için kendine has yatkınlıkların bulunması gerektiği gerçeğini işaret etmektedir [128].

Deneyisel modeller

“Punding” PH’de İKD’nin sık karşılaşılan bir bileşenidir. “Punding”, 1970’lerde Creese ve Iversen’in psikostimulan kullanan hayvanlarda ortaya çıktığını gösterdikleri ve kendi adlarıyla anılan ünlü skalalarıyla ölçtükleri stereotipik davranışlara benzetilebilir [129]. Stereotipi ile ilgili yapılan çalışmalar, düşük doz amfetamin ile sadece lokomotor aktivitede artış meydana geldiğini, ancak doz arttıkça amaçsız oral hareketler, yalanma ve kemirme gibi odaklanmış stereotipik davranışların kümeler halinde ortaya çıktığını göstermiştir [130]. Bu stereotipik hareketler sensitizasyona açıktır, ve tekrarlayan ilaç dozlarıyla daha erken ve daha yoğun olarak ortaya çıktıkları gösterilmiştir. Stereotipilerin gelişiminde ve ekspresyonunda dorsolateral striatumda fonksiyonel aktivite değişikliğinin rol oynadığı; nörokimyasal olarak ayrı kompartmanlar olan, striozomlar ve matriks arasında fonksiyonel bir denge değişimiyle, striozomal aktivitenin göreceli olarak öne çıkmasıyla yakın ilişkili oldukları gösterilmiştir [3, 131, 132].

Sağlıklı kemirgenlerle yapılan çalışmalar psikostimulanlarla tetiklenen stereotipilerin ortaya çıkmasında hem D1 hem D2 tip dopamin reseptörlerinin rolü olduğunu göstermiştir [133, 134]. Ancak sensitizasyon gelişmesinin daha çok D1 dopamin reseptörleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [135].

L-dopa, apomorfin ve amfetaminle tetiklenen stereotipik davranışlar parkinson sıçan modellerinde de incelenmiş ve ilk sunumlarında tedaviye bağlı motor komplikasyonlar kapsamında yorumlanmıştır [136]. Ancak daha sonra MF’lerin değerlendirilmesi için üretilen ve validasyonu yapılmış AİH skalalarında motor stereotipiler diskinetik davranışlarla karıştırılmamaları için skalalardan çıkarılmıştır [137].

PH ile ilgili klinik bilgilerimiz D2/D3 reseptör agonistlerinin “punding” gelişimine nadiren yol açtığını ortaya koymaktadır [138]. Buradan yola çıkarak L-dopa ve apomorfin gibi D1/D2 dopamin reseptörleri üzerinden etkili

olan ajanlarla, diskinetik hareketleri, motor stereotiplerden dikkatlice ayıran bir çalışmayla parkinson modelinde bu stereotipik davranışlar “punding” için umut vaad edici bir model olabilir [128]. Ancak MPTP primat modelinde, DA ve L-dopa ile ortaya çıkan bir dizi stereotipik hareketin, psikoz benzeri yan etkiler kapsamında tartışılmış olduğu da akılda tutulmalıdır [139]. Bu alandaki literatür çelişkili olup, daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu açıktır.

Hayvanlarda ilaçların ödüllendirici etkileri hakkında yapılan çalışmalarda kullanılan modellerden ilki ilaç kendi sunum (“self-administration”) görevleridir. Bu deneylerde, deneğin ödülü almak için bir pedala basması gerekebilir; deneylerin ilerleyen sürecinde deneğin aynı miktarda ödül için pedala daha fazla basması istenir ve hayvanın daha fazla devam etmediği bir “kırılma noktası” hesaplanmaya çalışılır [128]. Yine ödül devrelerine elektriksel uyarım verebildiği intrakranial kendi uyarma (“self stimulation- (İKSS)) düzeneği kullanılabilir. Bağımlılık yapıcı ilaçlar, İKSS için gerekli olan eşik değeri düşürmektedir. Son olarak CPP de bağımlılık modellerinde sık kullanılan bir davranış testidir. Testin en basit uygulamasında, birbirinden farklı doku, tat, renk, şekil hatta koku özellikleri bulunan birbirine bağlı iki kompartmanda denek serbest bırakılır. Daha sonraki alıştırmaya dönemlerinde deneğin hergün kompartmanlardan sadece birine erişimi açık olur ve seçilen biri ilaç enjeksiyonu ile ilişkilendirilir. Alıştırma döneminin sonunda yine serbest bırakılıp ilaçla ilişkilendirilmiş kompartmanı tercihi değerlendirilir [128].

Dopaminin direkt ve indirekt agonistlerinin ödüllendirici etkileri CPP ve ilaç kendi sunum paradigmaları ile birçok defalar çalışılmıştır. Bu çalışmalarda D2/D3 agonistlerinin ödüllendirici etkileri olduğu kanıtlanmıştır. D1/D5 agonistlerinin ise çan eğrisi şeklinde bir doz-cevap eğrisi olduğu, ödüllendirici olduğu aralığın doza bağımlı olduğu düşünülmektedir [128].

PH benzeri lezyonları olan kemirgenlerde DA’ların ödüllendirici etkilerini çalışmış olan sınırlı sayıda yayın bulunmaktadır. Bunlardan ilkinde bilateral MFB’ye 6-OHDA enjeksiyonu yapılmış ve SN’de %75, VTA’da %50 denervasyon oluşturulmuştur [140]. Striatumdaki denervasyonun paterni ve yüzdesi belirtilmemiştir. Parkinson modeli oluşturulan ve kontrol gruplarının

ikisinde de kokain ile CPP geliştiği gösterilmiştir. İntakt hayvan için uygun farmakolojik dozda verilen L-dopa (50-200mg/kg)'nın iki grup üzerinde de davranışsal bir etkisi olmamıştır. D1 agonist SKF81297 deney grubunda koşullanmış alan kaçınma (conditioned place aversion-CPA) oluştururken, kontrol grubunda CPP oluşturmuştur. D2 agonisti bromokriptin düşük dozda her iki grupta da CPP oluştururken, yüksek dozda deney grubunda CPA, kontrol grubunda CPP oluşturmuştur. Son olarak D3 agonisti PD128907 her iki grupta da CPP oluşturmuştur. Yazarlar bu sonuçları, dopamin replasman tedavisinin oluşturduğu bağımlılık benzeri etkilerde D2/D3 dopamin reseptörlerinin predominant rolüne ve ilaçların büyük olasılıkla denervasyona bağlı postsinaptik reseptörlerde ortaya çıkan sensitivite değişiklikleri nedeniyle lezyonlu hayvanlarda intakt hayvanlara göre farklı yanıtlar ortaya koymasına delil olarak sunmuşlardır [140]. Aynı yılda yayınlanan başka bir çalışma L-dopanin etkisi konusunda farklı sonuçlara varmıştır [141]. Bilateral SN'ye AAV enjeksiyonu yapılarak α -sinüklein aşırı ifadesi ile oluşturulan PH modelinde SN'de %30-40 oranında denervasyon sağlanmış, VTA'nın etkilenmediği belirtilmiştir. L-dopa tedavisi ile deney grubunda CPP oluşmuş, kontrol grubu ise alan tercihi göstermemiştir. Yazarlar tartışmada L-dopanin dopaminerjik denervasyondan sonra psikostimulan benzeri etki göstermeye başladığının üstünde durmuştur.

2012 tarihli başka bir çalışmada bilateral dorsolateral striatal lezyon oluşturulan hayvanlarda pramipeksol CPP oluşturmuş, kontrol grubunda CPP oluşturması için daha yüksek bir dozu gerekmiştir [6]. Alışılmadık bir yolla bilateral posterior VTA enjeksiyonu ile oluşturulan PH modelinde D2 ve D3 agonistlerinin deney grubunda belirgin CPP oluşturduğu gösterilmiş, bu kontrol grubunda izlenmemiştir. Bu çalışmada bilateral posterior VTA lezyonu olan hayvanlarda kokain ile CPP gelişmemiş olması, ödül devresi için posterior VTA'dan, nucleus accumbens ve amigdalaya uzanan mezolimbik yolun gerekli olduğuna dair bir kanıt olarak değerlendirilmiştir [5]. Aynı çalışma konfokal D2 immünohistokimya çalışmasıyla, DA'lar ile tedavi edilen denerve hayvanlarda nucleus accumbens kabuk bölgesinde D2 reseptör ekspresyonunun arttığını da göstermiştir. Aynı grubun bilateral anterior VTA

enjeksiyonu ile yaptıkları deneylerde CPP gelişmemiş olması ise mezokortikal yolun davranışsal sensitizasyonda primer rol oynamadığına yorulmuştur [142].

DDS, parkinson modeli oluşturulan sıçanlarda kendi sunum paradigması ile de çalışılmıştır [143]. Bilateral lateral ventrikül içine 6-OHDA enjeksiyonu ile oluşturulan PH modelinde SN_{pc}'de %50, VTA'da %32 denervasyon sağlandıktan sonra, pramipeksol kendi sunum görevindeki performansları incelenmiş. Deney grubundaki sıçanlar motor bozukluklarına bağlı olarak daha geç olsa da yalancı lezyon grubuyla eşit performans göstermişler ve bu durum hafif dopaminerjik denervasyonun pramipeksolün ödüllendirici bulunması üzerine etkili olmadığı şeklinde tartışılmıştır. Bu deneyde ilginç olarak bazı denerve sıçanlar belirgin olarak yüksek performans göstermişler ve bu durum PH'de İKD'ye eğilimin hasta grupları arasında belirgin farklılıklar göstermesi ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada da striatumdaki denervasyonun derecesi ve lokalizasyonu ile ilgili bilgi verilmemiştir.

Son olarak unilateral MFB 6-OHDA enjeksiyonu ile yapılan parkinson modelinde apomorfinin 0.05mg/kg ve 1mg/kg olmak üzere düşük ve yüksek dozlarında CPP paradigmasına bakılmıştır [144]. Düşük doz apomorfin deney grubunda CPP oluştururken, yalancı lezyon yapılan grupta oluşturmamıştır. Yüksek doz ise yalancı lezyon grubunda oluştururken, deney grubundaki hayvanlarda değişen yanıtlara neden olmuştur. Unilateral lezyonu olan deneklerin gösterdiği lokomotor dönme davranışı yüksek doz apomorfinle oluşan CPP skorları ile negatif bir ilişki içinde bulunmuştur.

Özet olarak; hem intakt hem Parkinson modeli hayvanlarda D2/D3 reseptörlerinin ödüllendirici etkileri olduğu söylenebilir. L-dopa ve D1 agonistleri için ise intakt ve denerve hayvanlarda farklı sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmaların metodolojik yaklaşımları, ilaç dozları, striatumdaki denervasyonların yüzdesi ve dağılımı ile ilişkili olabilir. Striatum lezyonlarının yayılımı ve paterninin post sinaptik dopamin reseptörlerinin sensitivitesini ve dolayısıyla ilaçlara cevabı etkilediği gösterilmiştir [128]. Ek olarak bu ilaçların yüksek dozda kullanıldıklarında intakt hayvanlar tarafından

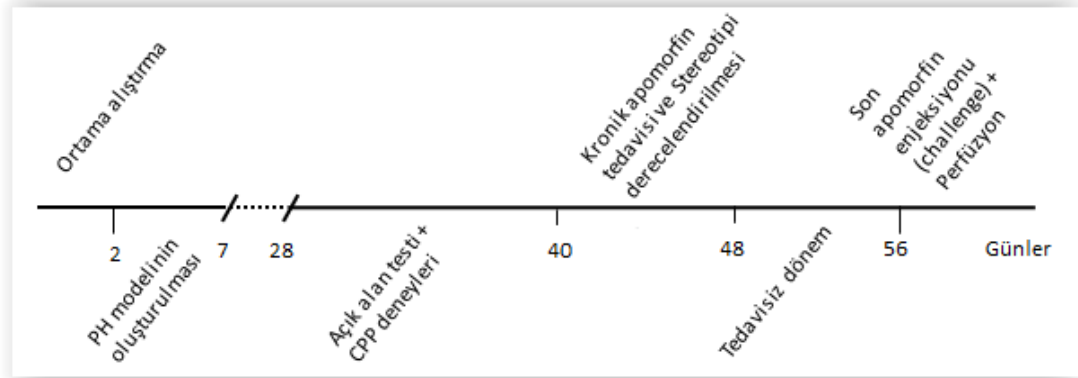
tedavinin tolere edilebilmelerine rağmen, denerve hayvanlarda diskinetik ve stereotipik davranışlar ortaya çıkarması tabloyu karıştıran başka bir etkidir. İleri çalışmalar bu kısıtlılıkları çözecek şekilde geliştirilmelidir.

III. GEREÇ ve YÖNTEM

III.1. Deney hayvanları

Bu çalışmada başlangıç ağırlığı ortalama 308 gram olan (± 127 gram) Sprague Dawley tipi erkek sıçanlar kullanıldı (s=70). Sıçanlar tüm çalışma boyunca sabit nem ve 18-20 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda tutuldu. Yiyecek ve içecek sınırlaması yapılmadı. Kafes ve ortamlarına uyum sağlayabilmeleri için sıçanlar deneylere başlanmadan iki gün önce laboratuvara getirildiler. Cerrahi girişim ve özel aparat gerektiren davranış deneyleri dışındaki deneyler, sıçanlar kendi kafesleri içindeyken gerçekleştirildi. Basit deney akış şeması şekilde 3.1'de özetlenmiştir.

Şekil 3.1. Deney zaman çizelgesi



III.2. Deneye grupları ve cerrahi

Bu çalışmada striatumda farklı topografi ve ağırlıkta dopaminerjik denervasyon oluşturmak amacı ile sıçanlar 5 farklı gruba ayrıldı:

1. Bilateral SN'ye 6-OHDA enjeksiyonu yapılan grup (s=25)
2. Bilateral SN'ye serum fizyolojik (SF) enjeksiyonu yapılan grup (s=10)
3. Bilateral VTA'ya 6-OHDA enjeksiyonu yapılan grup (s=13)
4. Bilateral VTA'ya SF enjeksiyonu yapılan grup (s=10)
5. Hiç bir işlem yapılmayan grup (s=12)

Tüm deneklere cerrahi işlem öncesi 0,35 mg/kg dozundan kloral hidrat verilerek genel anestezi uygulandı. Denekler Stoelting stereotaksik çerçevesine uygun şekilde yerleştirildikten sonra yarı steril koşullarda skalp temizliğini takiben orta hat cilt insizyonu yapıldı.

Stereotaksik enjeksiyonlar için Pellegrino stereotaksi atlası referans alındı[145]. Bu nedenle “incisor bar” kulaklar arası çizginin (“interaural line”) 2,3 mm aşağısına indirildi. SN enjeksiyonu koodinatları bregmanın 5,2 mm posterioru, 2 mm laterali ve 7.2 mm ventrali idi. VTA enjeksiyonları ise bregmanın 6mm posterior, 1mm lateral ve duradan 8mm ventrale gerçekleştirildi. Beyin içi enjeksiyonlar için dura mater görülene kadar kemik doku cerrahi “drill” yardımıyla çıkarıldı ve enjeksiyonlar Hamilton şırıngası (10 µl, 26 gauge) ile gerçekleştirildi. Dopaminerjik denervasyon sağlanan gruplarda 6-OHDA hidrobromid (Sigma, ABD), kontrol gruplarında ise aynı hacimde SF enjekte edildi. 6-OHDA, daha önce % 0,02 oranında askorbik asit içeren SF içerisinde sulandırılarak hazırlandı. 5 µl (12,5 µg) 6-OHDA, dakikada 1 µl hızında enjekte edildi. Enjeksiyon tamamlandıktan sonra 2 dakika sonra beklendi ve 1mm yukarı çekilerek 2 dakika daha beklendikten sonra yavaşça beyin dokusundan çıkıldı. Enjeksiyonlar sonrası cilt kesisi cerrahi iplikle dikildi; denekler stereotaksik çerçeveden çıkarılarak uyanana kadar beklendi ve takiben kafeslerine yerleştirildi. Denekler cerrahi işlemden 3 hafta sonra davranış deneylerine alındı.

III.3. Açık alan lokomotor aktivite testi

Bilateral dopaminerjik nöron kaybına dayalı motor ve sensori-motor bozukluklarının derecesinin belirlenmesi amacıyla sıçanlar kızılötesi ışınlar ile analiz edilen bir aktivite kafesi (45 cm x 45 cm x 30 cm) içine konuldu ve 1 saat boyunca bazal aktiviteleri gözlenerek analiz edildi. Analizlerde hayvanların hareketlilikleri, bu süreçte kat ettikleri mesafe ve ortalama hızları değerlendirildi.

III.4. Koşullandırılmış alan tercih testi

İlaç bağımlılığı deneylerinde sıkça kullanılan CPP deneklerde DDS sendromu gelişimini değerlendirmek için seçildi. Standartlara uygun olarak [140] 15x15x20cm boyutlarında, birbirine eş iki bölme ve bunların açılır-kapanır (giyotin) kapılarla bağlı olduğu 5x15x20cm boyutlarında bir orta bölmeden oluşan bir kutu kullanıldı. Her iki yandaki bölmelerin zemin döşemesi (siyaha boyanmış 5mm kalınlığındaki sunta üstüne 4mm çapındaki delikler ya da 4cm çapındaki delikler) ve duvar desenleri (benekli ya da çizgili) birbirinden farklı olarak düzenlendi. Orta bölmenin zemini ve duvarları düz siyah renge boyandı. Test 4 aşamada uygulandı.

Alıştırma: Denekler beş gün boyunca deneyin yapılacağı odaya alınmaya, araştırmacı tarafından tutulup kafeslerinden çıkarılmaya alıştıırıldı. Son iki günde deneklere intraperitoneal olarak 1 cc steril SF enjeksiyonu yapıldı.

Pretest: Denekler CPP kafesinin giyotin kapıları açıkken, yüzleri duvara bakacak şekilde orta bölmeye bırakıldı. 15 dk boyunca kafeste serbest zaman geçiren sıçanların her bir alanda geçirdikleri zaman video işleme programı (Etho vision 5.0) ile hesaplandı. Deneklerin her iki bölmeden (benekli ya da çizgili), daha az zaman geçirdikleri yan bölme ilaç enjeksiyonu ile, diğeri ise SF enjeksiyonu ile ilişkilendirilmek üzere belirlendi.

Koşullandırma:Pretestten bir gün sonra sıçanlar giyotin kapılar kapalı iken (içine konuldukları bölmeden çıkamıyorlarken), pretest sonuçlarına göre belirlenen ilaç enjeksiyonu ile ilişkilendirilen bölmeye apomorfin hidroklorür (5 ml/ampül, Britannia Pharmaceuticals-Gen İlaç), 0,1 mg/kg dozunda intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonu yapıldıktan hemen sonra bırakıldı. Deneklerin kutudaki davranışı 30 dk boyunca izlendi. Bir gün sonra her denek bu sefer karşıt bölmeye aynı hacimde i.p. SF enjeksiyonu yapılarak konuldu. İlk gün 30 dk lık ilaç enjeksiyonunu takip eden bir seans, ikinci gün SF enjeksiyonunu takip eden 30 dk lık bir seans yapılmak üzere toplam 8 seansta koşullandırma tamamlandı.

Test: Denekler, CPP kafesinin giyotin kapıları açıkken yüzleri duvara bakacak şekilde orta bölme bırakıldı. Her bir bölmede geçirilen zaman hesaplandı ve pretest verileri ile karşılaştırıldı.

Deneyin sonuçlarına göre her bir hayvan için koşullanma skoru şu formüle göre hesaplandı: Test günü ilaç enjeksiyonu yapılan bölmede geçirilen zaman-pretest günü ilaç enjeksiyonu yapılan bölmede geçirilen zaman.

Pozitif değerlerin koşullanmış alan tercihini, negatif değerlerin ise koşullanmış alan kaçınmasını gösterdiği kabul edildi.

III.5. Steriotipi ve Diskinezilerin Değerlendirilmesi

CPP deneylerinin bitmesinden sonra denekler iki gruba ayrıldı, birinci grup (n=47) 1 mg/kg dozunda i.p. apomorfin enjeksiyonu ile, ikinci grup (n=23) ise aynı hacimde SF enjeksiyonu ile 7 gün boyunca tedavi edildi. Deneklerin kendi kafesleri içinde davranışları enjeksiyonların 20. ve 50. dakikalarında 1 dakika süreyle kaydedildi. 7 gün tekrarlanan bu işlem sonrası 1 hafta ara verildi. Bir hafta sonra son bir "challenge" enjeksiyonu yapılarak yine her denek için iki video kaydı alındı.

Video kayıtları bağımsız bir gözlemci tarafından bir şifreleme sistemi ile tekrar adlandırıldı. Deneklerin gruplarına, günlere ve hangi dakikada çekildiğine kör olan araştırmacı tarafından Creese ve Iversen Stereotipi skalası [129] (Tablo 3.5.1) ve bilateral lezyonlar için modifiye edilmiş diskinezi skalası [146] (Tablo 3.5.2) ile ayrı ayrı skorlandı.

Tablo 3.5.1: Creese ve Iversen Stereotipi Skalası ([129]'den Türkçeye uyarlanmıştır)

Davranış	Skor
Uykuda ya da sakin	0
Aktif	1
Çoğunlukla aktif, ara sıra burun çekme gibi stereotipik hareketlerin kümeler halinde ortaya çıkması	2
Kafesin içinde düz bir çizgide ilerlerken sürekli burun çekme	3
Kafesin belirli bir noktasında duruyor, sürekli burun çekme hareketi	4
Sürekli yalanma hareketi	5
Kafesin belirli bir noktasında duruyor, sürekli yalanma ve kemirme hareketi	6

Tablo 3.5.2: Diskinezi Skalası ([146]'den Türkçeye çevrilerek kullanılmıştır.)

Davranış	Kriter	Skor
Lokomotor Diskineziler	Çok Ağır	4
	Ağır	3
	Orta	2
	Hafif	1
	Yok	0
Aksial Distoni	Çok Ağır	4
	Ağır	3
	Orta	2
	Hafif	1
	Yok	0
Orolingual Diskineziler	Çok Ağır	4
	Ağır	3
	Orta	2
	Hafif	1
	Yok	0

Sağ ya da sol ön ekstremite diskinezileri	Çok Ağır	4
	Ağır	3
	Orta	2
	Hafif	1
	Yok	0

III.6. Beyin dokusunun elde edilmesi ve İmmünohistokimya incelemeleri

Hayvanların beyinleri son enjeksiyondan 2-4 saat sonra yüksek doz kloralhidrat anestezisini takiben 0,1 M fosfat tamponu içinde % 4'lük paraformaldehit çözeltisi ile intrakardiyak perfüzyon sonrası çıkarıldı. Beyinler bir gün boyunca perfüzyon çözeltisi (% 4 paraformaldehit) içinde oda sıcaklığında ve daha sonra kriyoproteksiyon için % 30'luk glukoz solüsyonunda +4°C'de en az 24 saat bekletildi. Kuru CO2 buzunda dondurulan beyin örneklerinden kızaklı mikrotomla (Kriyostat-Leica CM 1100) 20 µm kalınlığında koronal beyin kesitleri alınarak poli-L-lizinli lamlara yerleştirildi, havada kurutularak tespit edildi.

Striatumdan her 200 µm'de bir olacak şekilde seçilen kesitler boyamaya alındı. Diğer kesitler ek boyamalar için -20°C'de saklandı.

Uygulanan boyama protokolü Tablo 3'te özetlenmiştir. Protokolden önce kesitlere %0.05 tripsin ve %0.1 kalsiyum klorid içeren solüsyon ile 30 dk 37°C 'de antijen açığa çıkarma işlemi uygulandı.

Boyamalar için biyotinsiz DAB kiti (EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit-ab80436) ve primer antikor olarak da anti-tirozin hidroksilaz antikorunu (Abcam- EP1533Y) kullanıldı.

Boyama işlemi tamamlandıktan sonra kesitler ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse E600, Ex 450-560 nm), NIS-Elements AR 2.30 yazılımı aracılığıyla incelendi.

Tablo 3: Kriyokesitlerde İmmünohistokimyasal Tirozin Hidroksilaz Boyama Protokolü

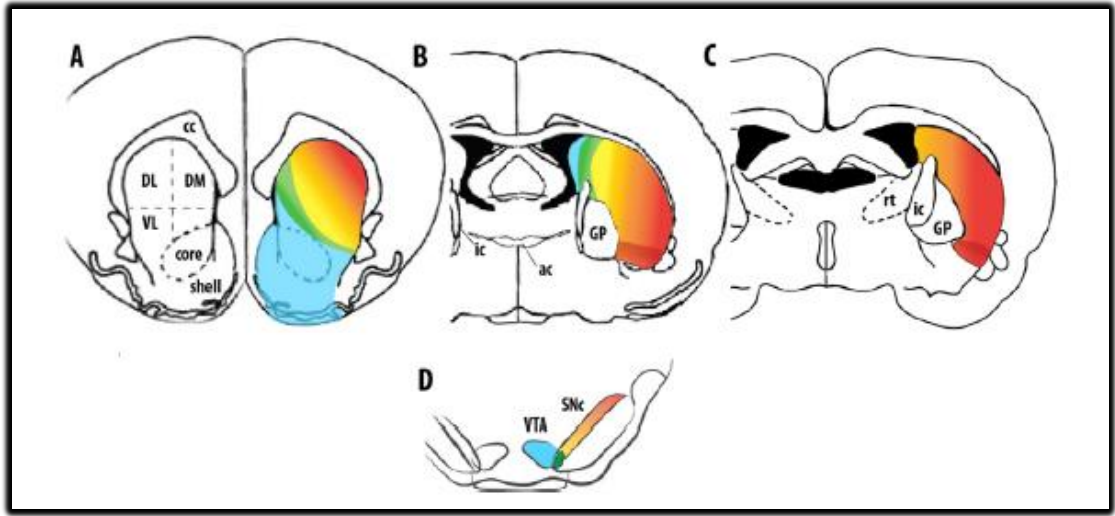
Aşama	İşlem
1	Kesitlerin etrafı pappen ile çizildi
2	2 kez 5'er dakika PBS (fosfatlı tuzlu serum fizyolojik) ile yıkandı
3	Hidrojen peroksit blocking kit solüsyonu (EXPOSE Anti mouse/anti rabbit DAB kit içeriği) konuldu ve 10 dakika bekletildi
4	2 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı
5	Protein blocking solüsyonu (EXPOSE Anti mouse/anti rabbit DAB kit içeriği) eklendi ve 10 dakika bekletildi
6	1 kez 5 dakika PBS ile yıkandı
7	Primer olarak PBS ile sulandırılmış anti-tirozin hidroksilaz 1:1000 oranında konuldu ve kesitler bir gece +4°C'de bekletildi
8	3 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı
9	Complement solüsyonu (EXPOSE Anti mouse/anti rabbit DAB kit içeriği) eklendi ve 10 dakika bekletildi
10	2 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı
11	HRP Konjugatı (EXPOSE Anti mouse/anti rabbit DAB kit içeriği) eklendi ve 15 dakika bekletildi
12	4 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı
13	1,5 ml DAB substratı (EXPOSE Anti mouse/anti rabbit DAB kit içeriği) içine 30 ul DAB kromojen (EXPOSE Anti mouse/anti rabbit DAB kit içeriği) konuldu (1/50) ve 1-10 dakika arası inkübe edildi
14	4 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı
15	Kesitler %70'lik, %90'lık ve %100'lük ethanol ile 3'er dakika, xylene ile 10 dakika muamele edilerek dehidrate edildi
16	Kesitler entellan ile kapatıldı

III.7. Görüntülerin değerlendirilmesi

Dopaminerjik denervasyonun değerlendirilmesi amacıyla her denek için nucleus accumbens de içeren striatumun bregmaya göre 1.7, 1.2 ve 0.7mm anterioruna denk gelen koronal kesitleri seçildi [147]. Seçilen kesitlerde

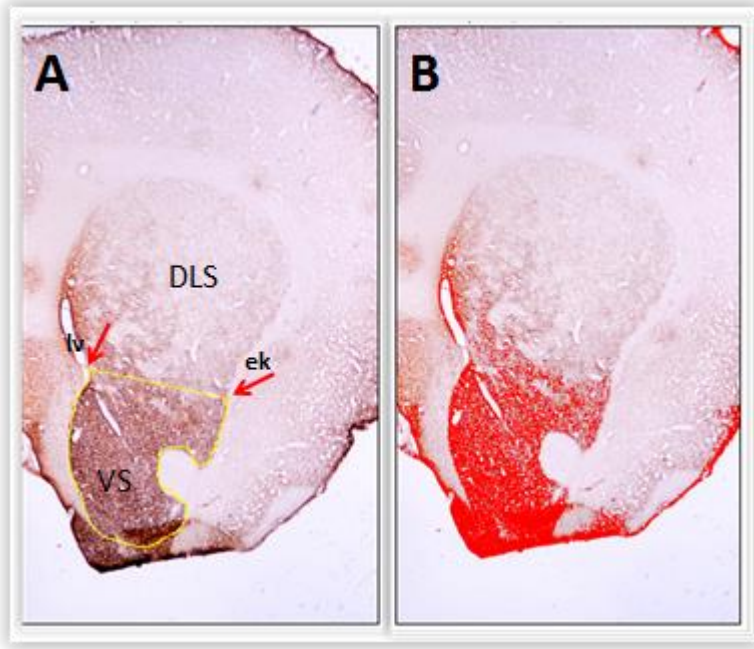
görüntü işleme programı ile (ImageJ 1.50i) lezyon oluşan alanın, striatuma göre yüzdesi her denek için sağ ve sol striatum için ayrı ayrı olmak üzere kaydedildi. Şekil 3.2’de gösterilen striatumun dopaminerjik projeksiyonlarına göre her lezyon için lateral ventrikülden eksternal kapsüle çizilen çizginin altında kalan alandaki uzanımı (ventral striatum) ve üstünde kalan alandaki uzanımı (dorsolateral striatum) da ayrı ayrı değerlendirmeye alındı. Görüntü işleme sürecine ait görsel şekil 3.3’te incelenebilir.

Şekil 3.2: Striatumun dopaminerjik projeksiyonları[128].



Şekil 3.2: Striatumun dopaminerjik projeksiyonları. Şekilde mavi olarak gösterilen VTA tarafından inerve edilen alan ve sarı-kırmızı olarak resmedilen SN_{pc} tarafından inerve edilen alan izlenmektedir. Rostral kesitlerde VTA inervasyonlu alanların büyük yer kapladığını, kaudale gidildikçe azaldıkları görülmektedir. ([128]’dan uyarlanmıştır)

Şekil 3.3: Lezyonların değerlendirilmesi.



Şekil 3.3:Lezyonların değerlendirilmesi. A)Ventral striatumu belirlemek için orjinal boyalı kesitte lateral ventrikül ve eksternal kapsülün işaretlenmesi gösteriliyor. B)A'daki kesitin görüntü işleme programı ile TH+ alanları kırmızı gösterecek şekilde işlenmiş görüntüsü. DLS:Dorsolateral striatum, VS: Ventral striatum, lv: Lateral ventrikül, ek:eksternal kapsül.

III.8. İstatistiksel analiz

Tüm istatistiksel analizler SPSS 21.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, USA) programı kullanılarak yapıldı. Bu çalışmada incelenen değişkenlerin, her deney grubuna ait ortalama değerleri t-testi kullanılarak belirlendi. Gruplar arası karşılaştırmalar, değişkenler az sayıda olduğu ve normal dağılım göstermediği için “nonparametrik” testler (Kruskal Wallis, Mann Whitney U testi, Spearman korelasyon katsayısı) kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık $p=0.05$ olarak kabul edildi. İkili karşılaştırmalarda “nonparametrik” posthoc test olarak Nemenyi-Dunn tarafından önerilen z testi kullanıldı. Sıçanların 8 gün süren kronik tedavileri süresince her gün video kayıtları alınarak incelenen diskinetik davranışları, diskinezi skalasına göre skorlandıktan sonra tedavi süresince bu skorlarda ortaya çıkan artışın gösterilebilmesi için Friedman ve Wilcoxon testleri kullanıldı.

IV. BULGULAR

IV.1. Dopaminerjik denervasyonun topografik dağılımı

TH immünohistokimyasal boyaması ile incelenen deneklerde striatum kesitleri ile VTA ve SN seviyesinden geçen kesitler arasında denervasyon lokalizasyonu açısından uyumluluk gözlemlendi. Ancak yüksek varyasyondan dolayı dopaminerjik denervasyonun topografik dağılımı için striatum boyamalarında yapılan, yöntemde belirtilen alan hesabının kullanılmasına karar verildi.

VTA hedeflenerek 6-OHDA enjeksiyonu yapılan 13 deneğin 1'inde (%8), yalnızca unilateral ventral striatum etkilenmesi; 2'sinde ise (%15) unilateral ventral ağırlıklı, dorsalateral striatumun da etkilendiği denervasyon izlendi. %77'sinde bilateral ventral ağırlıklı etkilenme olduğu görüldü.

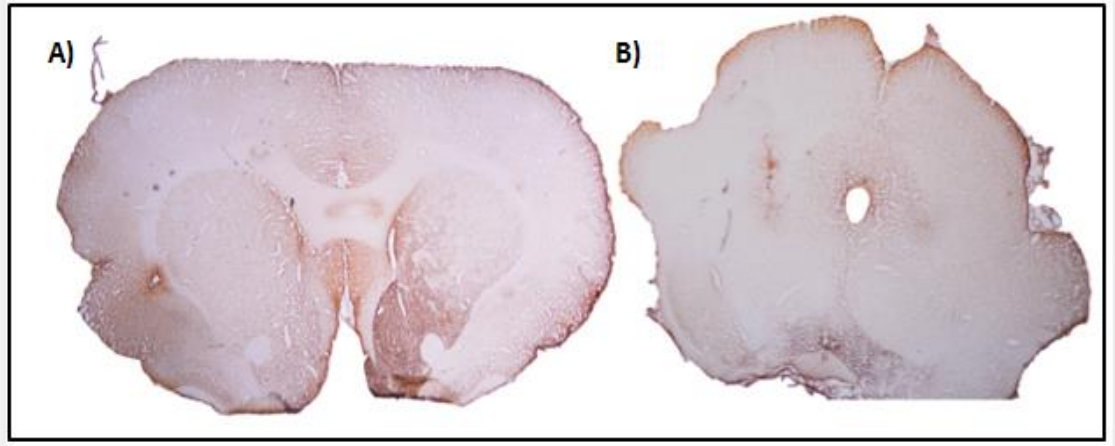
SN hedeflenerek enjeksiyon yapılan 25 hayvanın 2'sinde (%8), yalnızca unilateral dorsalateral striatum etkilenmesi, 12'sinde ise (%48), unilateral dorsal ağırlıklı ventral striatumun da etkilendiği denervasyon izlendi. %46'sında bilateral dorsal ağırlıklı etkilenme olduğu görüldü.

Unilateral etkilenmesi olan hayvanlar (n=17), bilateral etkilenmesi olan hayvanlarla karşılaştırıldığında (n=21), ortalama striatal lezyonun bilateral etkilenmesi olan grupta anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı (Kruskal-Wallis testi, $p=0,025$). Ancak bu gruplar ventral lezyon oranı, dorsalateral lezyon oranı ve lezyonun dorsal baskınlık yüzdesi açısından fark göstermiyordu.

Denekler, davranış deneylerindeki bulguların karşılaştırılması ve dopaminerjik denervasyonun ventral veya dorsal striatal dopaminerjik denervasyonla ilişkisinin irdelenmesi amacı ile dorsal ağırlıklı ya da ventral ağırlıklı striatal dopaminerjik denervasyonu olanlar şeklinde gruplandırıldı. Her bir gruptan birer deneğin TH ile boyanan orta beyin ve

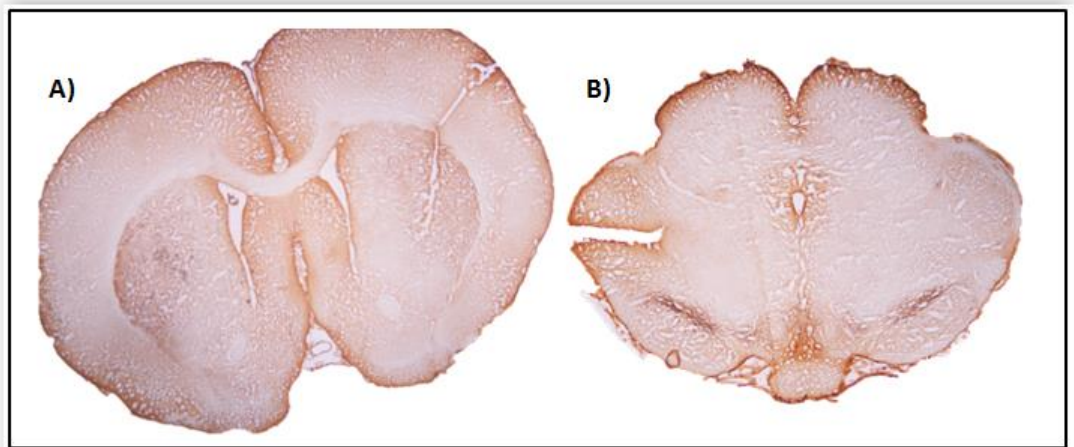
striatum kesitleri dopaminerjik denervasyonun lokalizasyon ve yaygınlığını göstermek amacı ile şekilde 4.1, 4.2 ve 4.3'te sunulmuştur.

Şekil 4.1: Dorsal ağırlıklı dopaminerjik denervasyon oluşturulan denek örneği



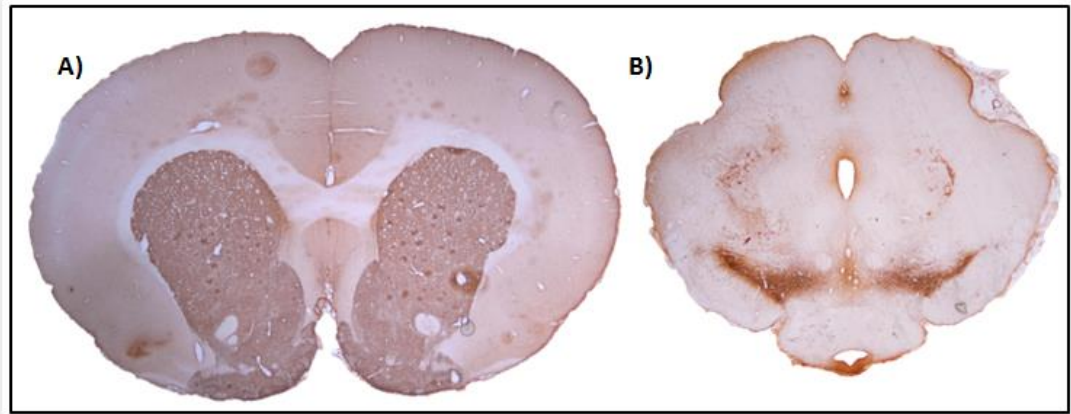
Şekil 4.1: Dorsal ağırlıklı dopaminerjik denervasyon oluşturulan denek örneği. A) Striatum seviyesindeki koronal kesitte solda total, sağda ise dorsolateral striatuma sınırlı dopaminerjik denervasyon gösterilmektedir. B) Aynı deneğin SN seviyesindeki koronal kesitinde bilateral etkilenmiş SN ve sağda korunmuş VTA gösterilmiştir.

Şekil 4.2: Ventral ağırlıklı dopaminerjik denervasyon oluşturulan denek örneği



Şekil 4.2: Ventral ağırlıklı dopaminerjik denervasyon oluşturulan denek örneği. A) Striatum seviyesindeki koronal kesitte bilateral ventral total dopaminerjik denervasyon gösterilmektedir. B) Aynı deneğin SN seviyesindeki koronal kesitinde bilateral etkilenmiş VTA ve göreceli olarak korunmuş SN gösterilmiştir.

Şekil.4.3: Yalancı lezyon oluşturulan denek örneği.



Şekil 4.3: Yalancı lezyon oluşturulan denek örneği. A) Striatum seviyesindeki koronal kesitte TH ile bilateral normal olarak boyanmış striatum izleniyor. B) Aynı denegin SN seviyesindeki koronal kesitinde normal boyanmış SN gösterilmiştir.

Ventral ağırlıklı ve dorsal ağırlıklı dopaminerjik denervasyon gruplarındaki ortalama striatal lezyon oranları tablo 4.1.1. de gösterilmiştir. VTA hedeflenerek 6-OHDA enjeksiyonu yapılan grupta (n=13), ortalama total striatal lezyon yüzdesi 29(±6), ortalama ventral striatal lezyon yüzdesi 48(±8) ve ortalama dorsal striatal lezyon yüzdesi 14(±5) olarak saptandı.

SN hedeflenerek 6-OHDA enjeksiyonu yapılan grupta(n=25), ortalama total striatal lezyon yüzdesi 44(±3), ortalama ventral striatal lezyon yüzdesi 29(±4) ve ortalama dorsal striatal lezyon yüzdesi 57(±4) olarak ölçüldü.

Tablo 4.1.1 : Deney gruplarının striatal dopaminerjik denervasyon oranları

	GRUPLAR			
	Ventral ağırlıklı (n=13)	Dorsal Ağırlıklı (n=25)	Kontrol (n=20)	İşlem yapılmamış grup (n=12)
Ortalama V Lezyon %	48	29	0	0
Ortalama DL lezyon** %	14	57	0	0
Ortalama Lezyon %	29	44	0	0
Dorsal Baskınlık oranı	0.29	1.97	.	.

Dorsal ağırlıklı lezyon oluşturulan ve ventral ağırlıklı lezyon oluşturulan gruplar arasında ortalama lezyon ve ortalama ventral lezyon yüzdeleri arasında anlamlı fark saptanmadı (Şekil 4.4) ancak dorsolateral lezyon yüzdesi dorsal ağırlıklı lezyon oluşturulan grupta anlamlı olarak yüksekti (Kruskal-Wallis testi, $p=0.04$).

Her bir denekte ayrıca dorsal lezyon yüzdesi/ventral lezyon yüzdesi şeklinde hesaplanan dorsal baskınlık oranı tanımlandı. Dorsal baskınlık oranının hesaplanmasının amacı, striatal dopaminerjik lezyonun dorsal ya da ventral striatal seçiciliğini tek bir rakama indirgeyebilip, DRT ile indüklenen davranış bozukluklarına yatkınlığı inceleyebilmektir.

IV.2. Lokomotor aktivite değişiklikleri

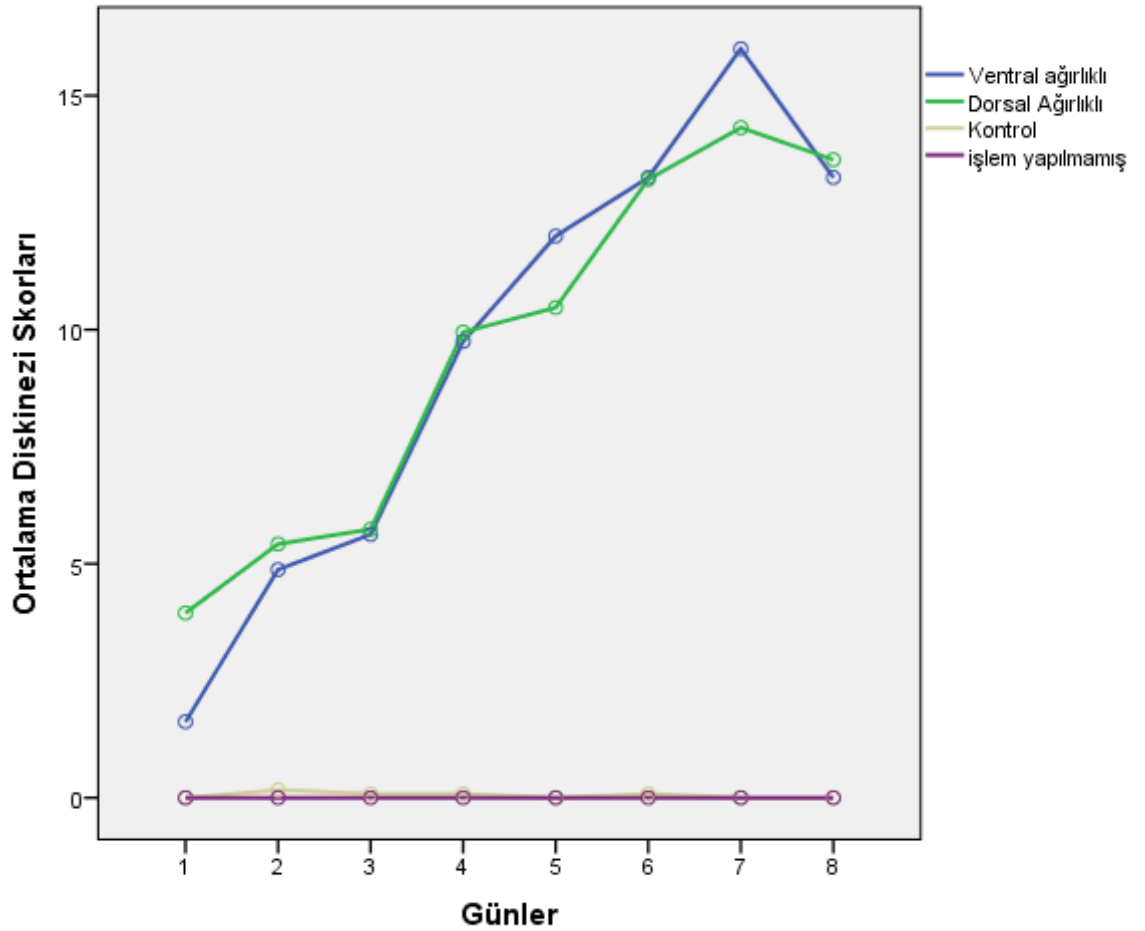
Deneklerin açık alan lokomotor aktivite testinde bir saatlik video kaydı ile hesaplanan geliş hızları ve katetikleri mesafe açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.524$). 6-OHDA enjeksiyonundan 3 hafta sonra tekrar yapılan testte, dorsal ağırlıklı lezyon oluşturulan lezyon grupta ortalama hız değeri 125cm/dk, ventral ağırlıklı lezyon oluşturulan grupta 131cm/dk, kontrol grubunda 134cm/dk, işlem yapılmamış grupta ise 144cm/dk olarak saptandı. PH motor bulgularının oluşmasını beklediğimiz dorsal ağırlıklı dopaminerjik denervasyon yapılan grupta ortalama hız değerinin diğer gruplara göre az olduğu görüldü ancak gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında hız değerleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı (Kruskal Wallis testi, $p=0.493$). Bu farkın istatistiksel anlamlılığa ulaşmaması bilateral %80 in üzerinde dorsal denervasyonu olan denek sayısının sayıca azlığına bağlandı ($n=4$).

IV.3. Apomorfine oluşturulan anormal istem dışı hareketlerin deney grupları arasında karşılaştırmalı değerlendirilmesi

Dopaminerjik denervasyon oluşturulan ve AİH'lerin değerlendirilmesi için günlük 1mg/kg apomorfine enjeksiyonu ile tedavi edilen deneklerde ($n=28$), diskinezi skalasına göre değerlendirilen AİH olarak da adlandırılan

diskinetik davranışların geliştiği ve tedavi sırasında giderek artış gösterdiği gözlemlendi ((Friedman testi, $p < 0.001$), Şekil 4.4). Bu artmış AİH'lerin bir haftalık tedavisiz dönem sonrasında tek doz 1mg/kg apomorfine enjeksiyonu ile yeniden ortaya çıkarılabildiği yani deneklerde davranışsal sensitizasyonun geliştiği görüldü. 6-OHDA lezyonu oluşturulan ve SF tedavisi alan sıçanlarda (n=10) ve denervasyon oluşturulmayan, apomorfine (n=19) veya SF (n=13) tedavisi alan kontrol grubunda diskinetik davranış gözlenmedi.

Şekil 4.4 :Diskinezi skorlarının gruplar arasında tedavi süresinceki değişimi.



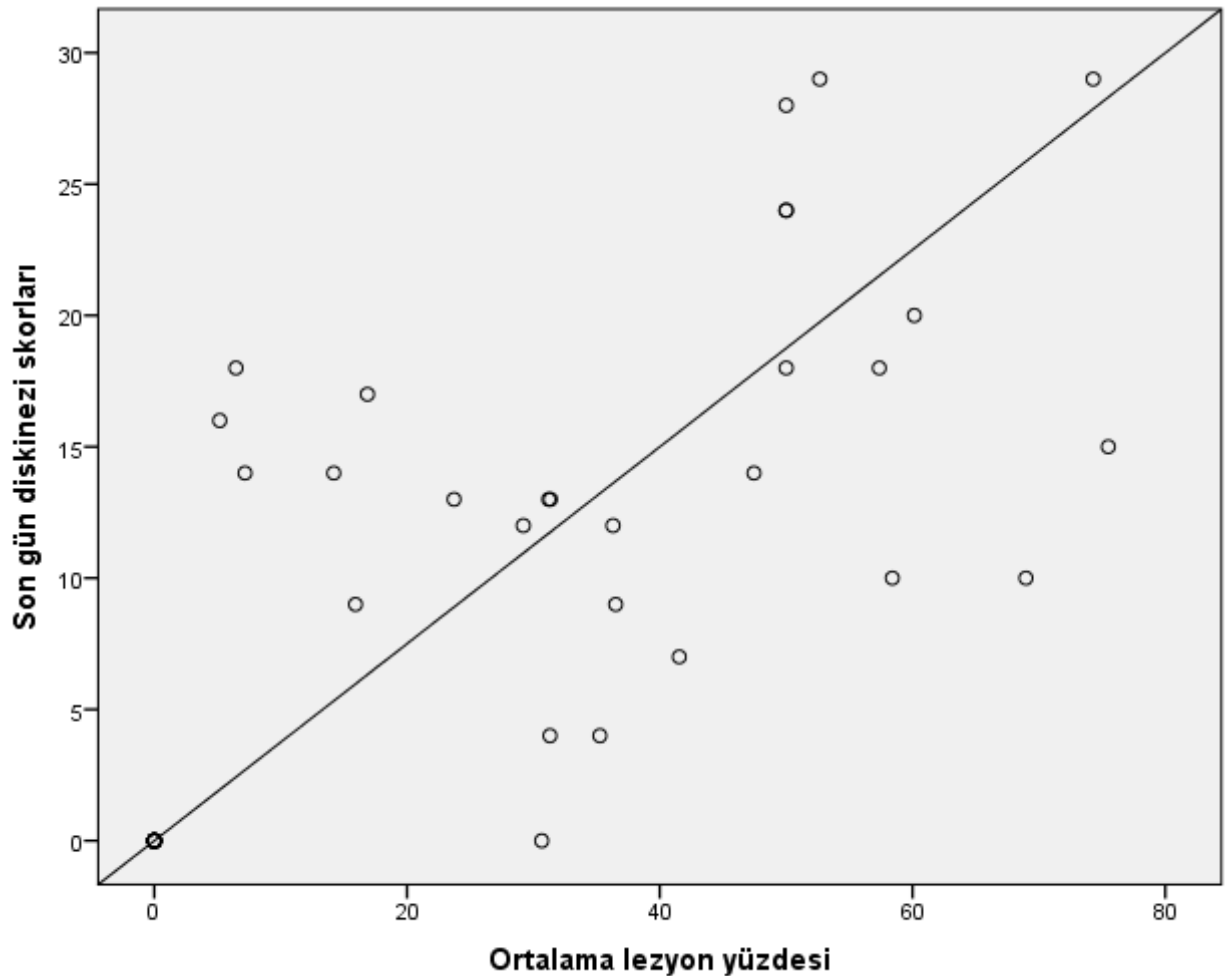
Dorsal ve ventral ağırlıklı dopaminerjik denervasyon grupları karşılaştırıldığında, tedavinin ilk gününde dorsolateral ağırlıklı lezyon oluşturulan grupta diskinezi skorları kontrol grubuna göre ve işlem

yapılmayan gruba göre anlamlı olarak yüksek saptandı (Kruskal-Wallis testi, sırasıyla $p < 0,001$ ve $p = 0,002$). Ventral ağırlıklı lezyon oluşturulan grup ile kontrol denekler arasında ise anlamlı fark saptanmadı.

Tedavinin son gününde ise hem dorsal, hem ventral ağırlıklı lezyon oluşturulan gruplar, kontrol ve işlem yapılmayan gruplara göre anlamlı olarak yüksek AİH göstermekteydi (Kruskal-Wallis testi, $p < 0,001$).

Deneklerde gözlenen diskinetik davranışlarla (son gün diskinezi değerleri), dopaminerjik denervasyonun ağırlığı arasındaki ilişki araştırıldığında, ortalama lezyon yüzdesi ile diskinezi skorlarının yüksek oranda pozitif korelasyon gösterdikleri saptandı (Spearman testi $r: 0,849$, $p < 0,001$). (Şekil 4.5)

Şekil 4.5 : Son gün diskinezi skorları ile ortalama lezyon yüzdesi arasındaki ilişki.



Son gün diskinezi skorları ile ortalama ventral lezyon yüzdesi ve ortalama dorsolateral lezyon yüzdesinin ayrı ayrı korelasyon analizleri, dorsal lezyon yüzdesi ile daha belirgin olmakla birlikte hem dorsal hem de ventral dopaminerjik denervasyon ağırlığının diskinezi skorları ile ilişkili olduğunu gösterdi (Spearman testi, sırasıyla $r=0,812$ ve $\rho=0,740$, p 'ler $<0,001$). Lezyonun dorsal baskınlık oranı ile son gün diskinezi skorları arasında ise anlamlı ilişki bulunamadı.

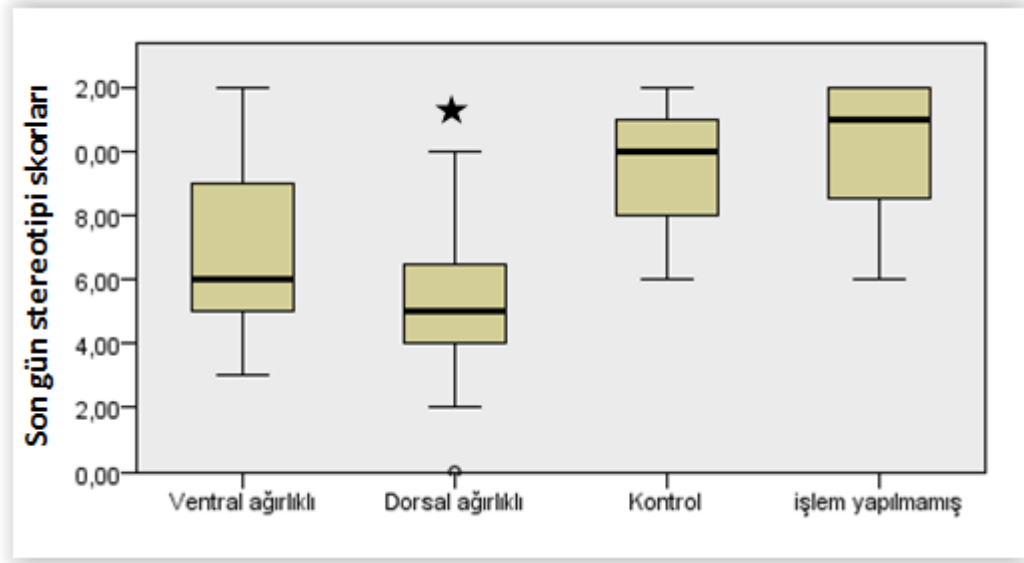
IV.4. Apomorfinle oluşturulan stereotipik davranışların deney grupları arasında karşılaştırmalı değerlendirilmesi

Stereotipik davranışların değerlendirilmesi için günlük 1mg/kg dozundan apomorfin tedavisi alan deneklerde (ventral ağırlıklı lezyonu olan $n=9$, dorsal ağırlıklı lezyonu olan $n=19$, kontrol $n=12$, işlem yapılmamış $n=7$, toplam $n=47$) stereotipik davranışların geliştiği görüldü.

6-OHDA lezyonu oluşturulan ve SF tedavisi alan sıçanlarda ($n=10$) ve denervasyon oluşturulmayan SF tedavisi alan sıçanlarda ($n=13$) stereotipik davranış gözlenmedi.

Apomorfin tedavisi alan deneklerde ilk günkü stereotipi skorları gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemekteydi. Son günkü stereotipi skorları ise gruplar arasında anlamlı olarak farklı saptandı (Kruskal-Wallis testi, $p=0,016$). İkili karşılaştırmalar incelendiğinde dorsal ağırlıklı lezyon oluşturulan grubun işlem yapılmayan gruba ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az stereotipik olduğu görüldü ($p=0,001$ ve $p=0,003$). (Şekil 4.6)

Şekil 4.6 : Son gün stereotipi skorlarının gruplar arasındaki dağılımı



Ortalama lezyon yüzdeleri ve stereotipi skorlarının ilişkisi incelendiğinde, ilk günle dopaminerjik denervasyon şiddeti arasında ilişki bulunamadı. Son günkü stereotipi skorları ve ortalama total striatal lezyon yüzdeleri arasındaki ilişki incelendiğinde ise orta anlamlılıkta negatif yönde bir korelasyonun varlığı saptandı ($r=-0,609$, $p<0.001$). Ortalama dorsal lezyon oranı ve ventral lezyon oranı ile son günkü stereotipi skorları arasındaki ilişki ayrı ayrı incelendiğinde ise dorsal uzanım ile daha anlamlı orta düzeyde negatif korelasyon gösterdikleri tespit edildi (sırasıyla $r=-0,633$ ve $r=-0,579$, p 'ler <0.001). Lezyonun dorsal baskınlık oranı ile son gün stereotipi skorları arasında ise anlamlı ilişki bulunamadı.

IV.5. Koşullanmış alan tercihinin gruplar arasındaki dağılımı

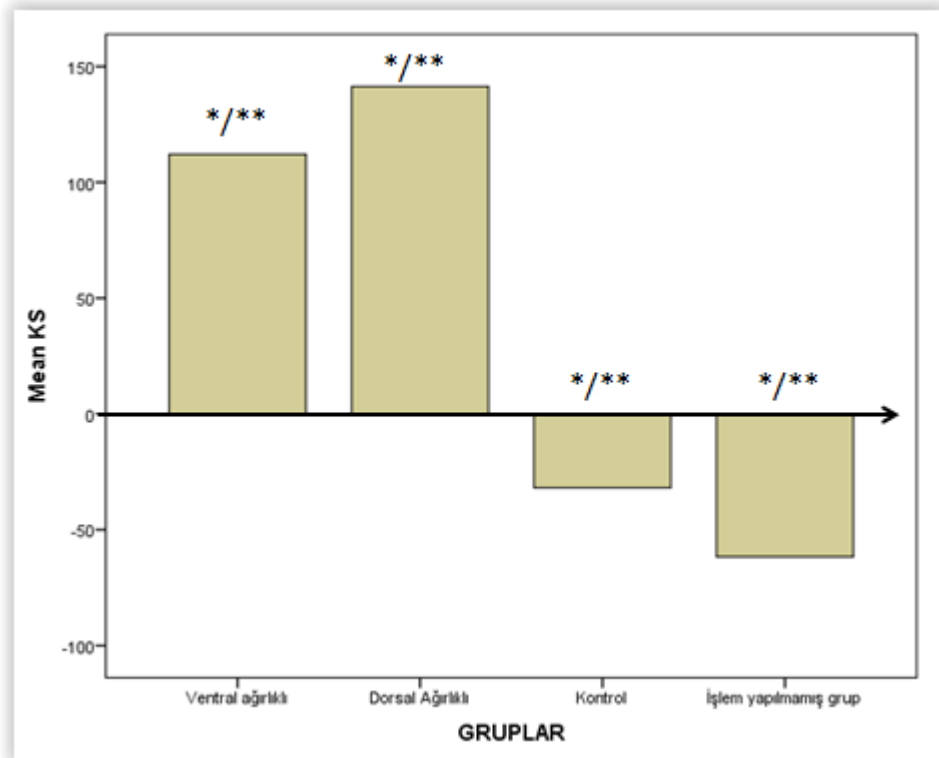
Grupların CPP için kullanılan kutuda ilaçla eşleştirilmiş olan tarafta, test gününde, pretesttekine göre geçirdiği artmış sürenin saniye cinsinden hesaplanması olarak belirlenen koşullanma skoru (KS), eksi değerleri ile koşullanmış alan kaçınmasını, artı değerleri ile de koşullanmış alan tercihinin parametresi olarak kabul edildi.

Ventral ağırlıklı lezyon oluşturulan grupta ortalama KS (112 ± 42), dorsal ağırlıklı lezyon oluşturulan grupta ortalama KS (141 ± 47), yalancı lezyon oluşturulan kontrol grubunda (-32 ± 21) ve işlem yapılmayan grupta ise (-62 ± 24) olarak saptandı.

Ventral ağırlıklı lezyon grubunda KS hem kontrole hem de işlem yapılmayan gruba göre anlamlı olarak yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,021$ ve $p=0,030$, Kruskal-Wallis testi). Dorsolateral ağırlıklı lezyon grubunda da KS hem kontrole hem de işlem yapılmamış gruba göre anlamlı olarak yüksek saptandı (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,008$, Kruskal-Wallis testi). Şekil 4.7'de KS'nin gruplar arasındaki dağılımı gösterilmektedir.

İşlem yapılmayan grup ile kontrol arasında ve ventral/ dorsal ağırlıklı grupların kendi içinde anlamlı farklılık saptanmadı.

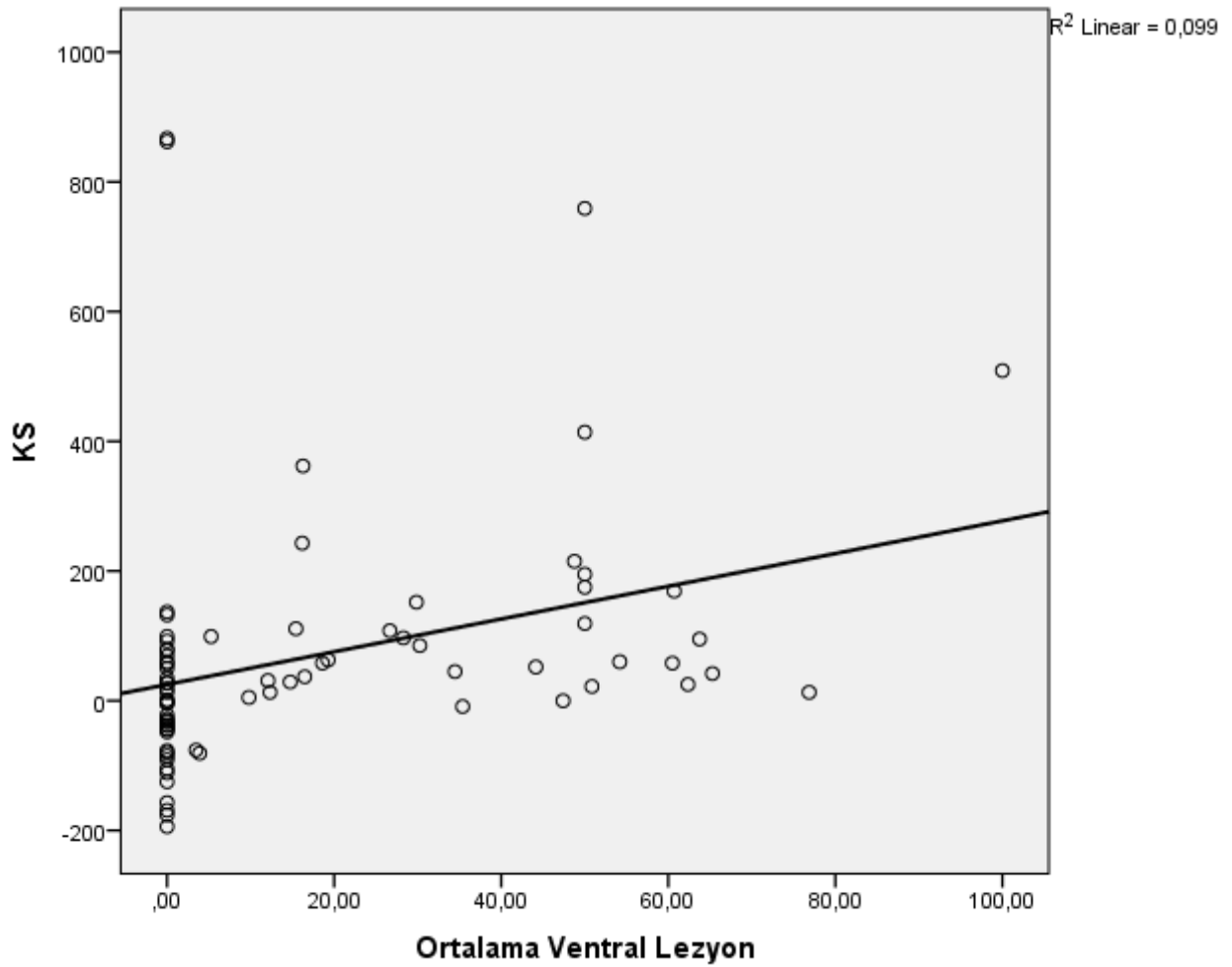
Şekil 4.7 : Gruplar arasında KS'nin dağılımı.



Şekil 4.7 : Gruplar arasında KS'nin dağılımı. Ventral ağırlıklı grupta KS kontrol ile işlem yapılmayan gruba göre ve dorsal ağırlıklı grupta da kontrol ile işlem yapılmayan gruba göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır.

Deneklerin ortalama lezyon yüzdesi, ortalama ventral ve dorsal lezyon yüzdeleri ve dorsal baskınlık yüzdelerinin KS ile korelasyonuna bakıldığında ortalama ventral lezyon ile KS arasında orta şiddette pozitif korelasyon saptandı (Spearman testi, $\rho=0.487$, $p=0.001$). Şekil 4.8'de KS ve ortalama ventral lezyon yüzdesi arasındaki korelasyon şematik olarak gösterilmektedir.

Şekil 4.8 : KS ile ortalama ventral lezyon yüzdesi arasındaki ilişki.



Şekil 4.9 : KS ile ortalama ventral lezyon arasındaki ilişki. Aralarında orta şiddette pozitif korelasyon saptanmıştır (Spearman testi $\rho=0.487$, $p=0.001$).

V. TARTIŞMA

PH'de motor bulguları tedavi etmek için kullanılan dopaminerjik ajanlarla ortaya çıkan motor komplikasyonlar uzun zamandır araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Bu alanda farklı hayvan modelleri oturmuş ve araştırmalar davranış ayağından, moleküler düzeye kadar geniş bir yelpazede ilerleme göstermiştir.

DRT'nin PH kliniklerimizde gittikçe daha fazla dikkatleri üzerine çeken bir diğer komplikasyonu olan impulsif-kompulsif davranışlar ise güncel araştırmaların yoğunlaştığı bir alandır.

Bu çalışmada impulsif-kompulsif davranışlar ana başlığı altında incelenen, tekrarlayıcı amaçsız hareketlerden oluşan "punding" tablosu ile, kompulsif dopaminerjik ilaç kullanımını tanımlayan dopamin disregülasyon sendromu, 6-OHDA ile oluşturulan PH modelinde, lezyon topografisi ile davranış çıktıları arasındaki ilişki bakımından incelenmiştir.

Sıçanlarda nigrostriatal yola 6-OHDA enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel PH modelinde kronik L-dopa tedavisi ile ortaya çıkan kontralateral dönme hareketi ve eşlik eden diğer istem dışı hareketlerin davranışsal sensitizasyonu temsil ettiği ve L-dopa ile tetiklenen diskineziler için uygun bir rodent modeli olduğu kabul edilmektedir. Unilateral 6-OHDA sıçan modeli daha önce laboratuvarımızda da etkin bir şekilde kullanılmıştır ve işlevli gösterilmiştir [148]. Ancak impulsif-kompulsif davranışları çalışan kemirgen modellerinde unilateral lezyonlar, postüral yanılığlara ve kontrolateral sensorimotor ihmale neden olmaları nedeniyle tercih edilmemektedir. Bu çalışmada biz bilateral dorsal ve ventral striatumun selektif (ya da yoğunlukta etkilendiği) dopaminerjik denervasyon modeli geliştirmek bu deneklerde impulsif-kompulsif davranışları incelemek istedik.

Çalışmamızda bilateral model ancak %58 oranında oluşturulabildi. Yöntemin önemli kısıtlılıkları, davranış deneylerine başlamadan önce yapılabilecek, enjeksiyonun başarısı konusunda doğrulanmış bilgi veren apomorfinle tetiklenen dönme testi gibi bir belirtecin bulunmaması ve bilateral ağır dopaminerjik denervasyon oluşturulan hayvanlardaki yüksek ölüm oranlarıdır.

Bu çalışmada 7 gün kronik aralıklı apomorfin tedavisiyle sıçanlarda diskinezi gelişimi gösterildi. Bu diskineziler aralıklı video kayıtlarıyla incelendi ve diskinezi skalasına göre skorlandı. Dopaminerjik denervasyon geliştirilen ve apomorfin tedavisi verilen sıçanlarda diskinezi skorlarının tedavi süresince istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği ve dopaminerjik denervasyonun şiddetini gösteren ortalama striatal lezyon yüzdesi ile de yüksek düzeyde, anlamlı ve pozitif korelasyon gösterdiği bulundu. Tedaviye 1 haftanın sonunda 1 hafta ara vererek, son bir “challenge” dozu verildiğinde diskinezi skorlarında hafif düşmek olmakla ilk günle karşılaştırıldığında halen anlamlı olarak yüksek olduğu bulundu. Bu durum davranışsal sensitizasyona örnek olarak kabul edildi.

Açık alan lokomotor aktivite testinde deneklerin parsiyal denervasyondan sonra ölçülen lokomotor davranışları ile kontrol gruplarındaki lokomotor davranışlar arasında fark bulunamamıştır. Bu durum PH motor bulgularının SN’de %80’in üzerinde dopaminerjik denervasyon geliştikten sonra başladığı bilgisiyle uyumludur. Deneklerimizin yalnız 4’ünde bilateral >%80 dorsolateral striatal denervasyon bulunmaktadır. Bizim çalışmamızla benzer olarak 6-OHDA ile bilateral parsiyal medial VTA ve SNpc lezyonları oluşturulan bir çalışmada deneklerin lokomotor aktiviteleri ile kontroller arasında fark bulunamamıştır [147]. Bu çalışmada VTA lezyonu oluşturulan grupta ventral striatumdaki denervasyon yüzdesi %40-60 olarak belirtilmiş, bizim çalışmamızdaki ventral ağırlıklı grupta saptanan %48’lik denervasyon yüzdesi ile uyumlu olduğu düşünülmüştür. Aynı çalışmada dorsal striatumdaki denervasyon %70 oranıyla, bizim çalışmamızdaki %57’lik denervasyondan yüksek saptanmıştır. Bir sonraki çalışmalarda dopaminerjik denervasyona bağlı silik motor belirtilerin gösterilmesi için adımlama testi gibi ince motor belirtileri daha iyi gösteren bir testin yöntemine katılması gerektiğine karar verilmiştir.

Bu çalışmada ilginç olarak, dorsal ağırlıklı dopaminerjik denervasyon geliştirilen denek grubunda “punding” davranışını modelleyebileceğini düşündüğümüz tekrarlayan yüksek doz apomorfin tedavisi ile ortaya çıkarılan stereotipik davranışların, dopaminerjik denervasyon geliştirilmeyen

ancak benzer şekilde tekrarlayan apomorfin tedavisi ile stereotipik davranışların indüklendiği deneklerden daha az geliştiğini saptadık. Bu bulgulara benzer bir şekilde, 2012 yılında yapılan, unilateral 6-OHDA lezyonu oluşturulan sıçanlarda 3 farklı diskinezi skalası ve klasik stereotipi skalasını karşılaştıran bir çalışmada, 6 hafta 6mg/kg'dan L-dopa tedavisi alan sıçanlarda diskinezi davranışlar haftalar içinde artma eğilimindeyken stereotipik davranışlarda anlamlı bir artış gerçekleşmemiştir. Doz 6. haftadan sonra 12mg/kg'a çıkıldığında stereotipik davranışlarda artış gerçekleşmiş, ancak bu dozda devam edilen 6 hafta boyunca tekrar belirgin bir artış saptanmamıştır [137]. Aynı çalışmada diskinezi skorları ve lokomotor dönme davranışı ile stereotipi skorları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Yazarlar DRT'ye bağlı ortaya çıkan motor komplikasyonlarla, stereotipik davranışların farklı doğasını vurgulamış ve kemirgenlerde AIH'leri ölçmek için kullanılan skalalarda stereotipik hareketleri de skorlayan hibrit skalaların kullanımının aleyhine görüş bildirmişlerdir.

Ayrıca, striatumda vücudun topografik reprezentasyonu göz önüne alındığında en lateral ve en dorsal bölgenin alt ekstremiter ve gövdeyi, daha santral ve ventrale gittikçe orabukal bölgeyi reprezante etmesi, dorsolateral striatum denervasyonunun diskinezi skalaları ile daha çok değerlendirilen ekstremitelerde ve gövdede belirgin repetitif hareketlerle gitmesi, buna rağmen stereotipi skalaları ile daha çok değerlendirilen orabukal repetitif hareketlerle ise daha az beraberlik göstermesini açıklayabilir. Bu durum, dopaminerjik tedavilerle indüklenen stereotipilerin "punding"i iyi modelleyemeyeceğini düşündürmektedir.

PH ile ilgili klinik bilgilerimiz D2/D3 reseptör agonistlerinin "punding" gelişimine nadiren yol açtığını ortaya koymaktadır [138]. "Punding" in kokain ve amfetamin gibi psikostimulan ilaç alanlar ve DRT alan PH hastalarında ortaya çıkması, D1 ve D2 dopamin agonistleri ile ilişkili olması, DDS ve diskineziler ile birliktelik göstermesi nedeniyle striatal plastisite değişiklikleri, sensitizasyon ve ödül mekanizmaları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Literatürde "punding" in intakt ya da PH modeli oluşturulan kemirgenlerde ortaya çıkan stereotipik hareketlerle ilişkisine dair konunun uzmanı yazarlarca tekrarlanan bir kanaat da bulunmaktadır.

Diğer taraftan, bizim çalışmamızda kullanılan klasik stereotipi ölçeği, lokomotor aktiviteyi kantiteye etmemesi, tekrarlayan davranışların duyuşal uyarınlarla çelinebilirliğini değerlendirmemesi, yoğun oral diskineziler gösteren deneklerde, stereotipik tekralayıcı oral hareketlerle, diskinetik hareketlerin ayırımında yol göstermemesi, baskın olarak ekstremitelelerinde stereotipik tekrarlayıcı hareketler gösteren deneklerin yüksek skorlar almaması gibi açılardan “punding” modelinin gerektirdiği ihtiyaçlara spesifik değildir. Bundan sonraki çalışmalarda modifiye bir stereotipi ölçeğinin, yukarıda sayılan ihtiyaçları karşılayacak şekilde geliştirilmesinin punding davranışını modellemede önemli olacağını düşünmekteyiz.

İntakt hayvanlarda dopaminin direkt ve indirekt agonistlerinin ödüllendirici etkileri üzerinde yapılan çalışmalar D2/D3 dopamin agonistlerinin ödüllendirici etkileri olduğunu kanıtlamıştır. D1/D5 agoistlerinin ise çan eğrisi şeklinde bir doz-cevap eğrisi olduğu, ödüllendirici olduğu aralığın doza bağımlı olduğu düşünülmektedir [128]. PH modeli olan sıçanlarda yapılan çalışmalar, özellikle D3 agonistlerinin CPP paradigması ile ödüllendirici etki oluşturduğunu göstermektedir [6].

Biz bu çalışmada uygulama ve elde etme kolaylığı nedeniyle dopamin agonisti olarak apomorfinin kullanımını seçtik. Bizim bilgimiz dahilinde bu çalışma bilateral PH modeli oluşturulan hayvanlarda bir D1/D2 agonisti olan apormofinin DDS’yi modellemek amacıyla kullanıldığı ilk çalışmadır. Biz bu çalışmada düşük doz apomorfinin dopamin denervasyonu olan deneklerde CPP, intakt sıçanlarda ise tam tersi CPA oluşturduğunu gözlemledik.

Hem ventral hem de dorsal ağırlıklı dopaminerjik denervasyon geliştirilen gruplarda koşullanma davranışının, kontrole ve işlem yapılmayan gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Ancak yalnızca ventral striatumda dopaminerjik denervasyonun ağırlığı ile koşullanma skorları arasında anlamlı bir ilişkinin varlığı görülmüştür ($r=0,487$, $p=0.001$). Bu bulgu, DDS’yi modellemeye çalıştığımız CPP paradigmasındaki sonuçların ventral striatum etkilenmesi ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Bu konuda 2012 yılında yapılan bir çalışmada bizim çalışmamızla çelişen bulgular ortaya konmuştur. Bu çalışmada bilateral MFB’ye 6-OHDA

enjeksiyonu yapılmış ve SN'de %75, VTA'da %50 denervasyon oluşturulmuştur [140]. Striatumdaki denervasyonun paterni ve yüzdesi belirtilmemiştir. Parkinson modeli oluşturulan ve kontrol gruplarının ikisinde de kokain ile CPP geliştiği gösterilmiştir. İntakt hayvan için uygun farmakolojik dozda verilen L-dopa (50-200mg/kg)'nın iki grup üzerinde de davranışsal bir etkisi olmamıştır. D1 agonist SKF81297 deney grubunda koşullanmış alan kaçınma (conditioned place aversion-CPA) oluştururken, kontrol grubunda CPP oluşturmuştur. D2 agonisti bromokriptin düşük dozda her iki grupta da CPP oluştururken, yüksek dozda deney grubunda CPA, kontrol grubunda CPP oluşturmuştur [140].

Bu çalışmada kullanılan L-dopa dozu denerve hayvanlarda kullanılan dozun üzerindedir. SKF81297'nin sadece D1 agonisti oluşu ve L-dopa'nın ise dopamin reseptörlerini spesifik olmayan bir paternde uyarıyor oluşu bu sonuca yol açmış olabilir.

Aynı yılda yayınlanan başka bir çalışmanın sonuçları ise bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uyumaktadır [141]. Bilateral SN'ye AAV enjeksiyonu yapılarak α -sinüklein aşırı ifadesi ile oluşturulan PH modelinde SN'de %30-40 oranında denervasyon sağlanmış, VTA'nın etkilenmediği belirtilmiştir. L-dopa tedavisi ile deney grubunda CPP oluşmuş, kontrol grubu ise alan tercihi göstermemiştir.

Bizim verilerimiz destekleyen başka bir çalışmada da unilateral MFB 6-OHDA enjeksiyonu ile yapılan parkinson modelinde apomorfinin 0.05mg/kg ve 1mg/kg olmak üzere düşük ve yüksek dozlarında CPP paradigmasına bakılmıştır [144]. Düşük doz apomorfin deney grubunda CPP oluştururken, yalancı lezyon yapılan grupta oluşturmamıştır. Yüksek doz ise yalancı lezyon grubunda oluştururken, deney grubundaki hayvanlarda değişen yanıtlara neden olmuştur. Unilateral lezyonu olan deneklerin gösterdiği lokomotor dönme davranışı yüksek doz apomorfinle oluşan CPP skorları ile negatif bir ilişki içinde bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda da CPP'nin son alıştırmaya gününde deneklerin dönüş sayıları kaydedilmiş, ancak koşullanma skorları ile orta şiddette pozitif korelasyon gösterdikleri saptanmıştır ($r=0,431$, $p<0,001$).

Bağımlılık üzerine yapılan çalışmalar, ventral striatumun, özellikle nucleus accumbensin sensitizasyonunun ödül devresinin maladaptif öne çıkışındaki önemine işaret etmektedir. Dopaminerjik denervasyonunu posterior VTA'dan alan nucleus accumbens ve amigdala beraber mezolimbik yolu oluşturmaktadır. Anterior VTA ise daha çok prefrontal kortekse projeksiyon göndermekte ve bu yol da mezokortikal yol olarak anılmaktadır. Nucleus accumbens etkilenmesinin dopaminerjik ilaçla tetiklenen CPP üzerine etkisini göstermek için 6-OHDA ile bilateral posterior VTA lezyonu oluşturulan bir çalışmada D2 ve D3 agonistlerinin deney grubunda belirgin CPP oluşturduğu gösterilmiş, bu kontrol grubunda izlenmemiştir. Bu çalışmada bilateral posterior VTA lezyonu olan hayvanlarda kokain ile CPP gelişmemiş olması, ödül devresi için posterior VTA'dan, nucleus accumbens ve amigdalaya uzanan mezolimbik yolun gerekli olduğuna dair bir kanıt olarak değerlendirilmiştir [5]. Aynı çalışma konfokal D2 immünohistokimya çalışmasıyla, DA'lar ile tedavi edilen denerve hayvanlarda nucleus accumbens kabuk bölgesinde D2 reseptör ekspresyonunun arttığını da göstermiştir. Aynı grubun bilateral anterior VTA enjeksiyonu ile yaptıkları deneylerde CPP gelişmemiş olması ise mezokortikal yolun davranışsal sensitizasyonda primer rol oynamadığına yorulmuştur [142].

Bizim çalışmamızda da paralel olarak yalnızca ventral striatuma dopaminerjik denervasyonun ağırlığı ile koşullanma skorları arasında anlamlı bir ilişkinin varlığı görülmüştür ($r=0,487$, $p=0.001$). Bu bulgu, literatürdeki diğer kanıtlar ile DDS'yi modellemeye çalıştığımız CPP paradigmasındaki sonuçların ventral striatum etkilenmesi ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

VI. SONUÇLAR

- 1- Hem dorsal hem de ventral ağırlıklı dopaminerjik denervasyon geliştirilen deneklerde apomorfin tedavisi ile diskineziyi tanımlayan AİH geliştiği ve diskinezilerin tekrarlayan tedavi ile istatistiksel anlamlılıkta arttığı görüldü.
- 2- Diskinetik davranışların, dopaminerjik denervasyonun lokalizasyonundan çok dopaminerjik denervasyonun ağırlığı ile ilişkili olduğu gözlemlendi.
- 3- Tekrarlayan apomorfin tedavisi ile ortaya çıkan stereotipilerin dorsal ağırlıklı dopaminerjik denervasyon oluşturulan deneklerde, yine apomorfin ile tedavi edilen intakt deneklere göre daha az olduğu görüldü. Korelasyon çalışmaları ek olarak dopaminerjik denervasyonun ağırlığı ile stereotipi skorları arasında negatif bir korelasyonun varlığını gösterdi.
- 4- DDS'yi modelleyen koşullandırılmış alan tercihi testi çalışmaları hem dorsal hem de ventral ağırlıklı dopaminerjik denervasyon geliştirilen deneklerde apomorfin tedavisi ile koşullanmış alan tercihinin, kontrol gruplarında ise koşullanmış alandan kaçınma davranışının geliştiğini gösterdi.
- 5- Yalnızca ventral striatumda dopaminerjik denervasyonun ağırlığı ile koşullanma davranışı skorları arasında anlamlı bir ilişkinin varlığı görüldü. Bu bulgu, DDS'yi modellemeye çalıştığımız CPP paradigmasının ventral striatum etkilenmesi ile ilişkili olduğunu düşündürdü.

VII. ÖNERİLER

1. Kronik apormofin tedavisi ile tetiklenen stereotiplere ait elimizdeki videoların lokomotor aktivite artışı açısından değerlendirilmesine ve ventral ağırlıklı lezyon grubunda lokomotor aktivitenin artıp artmadığının değerlendirilmesine karar verildi.
2. Ayrıca “punding” davranışını modelleyebilecek yeni bir stereotipi ölçeği geliştirilmesine karar verildi.
3. DDS, Punding ve diğer impulsif-kompulsif davranışlar ile ilişkili hücresel mekanizmaların bu modeller kullanılarak araştırılması planlandı.

VIII. KAYNAKLAR

1. Hassan, A., et al., *Dopamine agonist-triggered pathological behaviors: surveillance in the PD clinic reveals high frequencies*. *Parkinsonism Relat Disord*, 2011. **17**(4): p. 260-4.
2. Rokosik, S.L. and T.C. Napier, *Pramipexole-induced increased probabilistic discounting: comparison between a rodent model of Parkinson's disease and controls*. *Neuropsychopharmacology*, 2012. **37**(6): p. 1397-408.
3. Saka, E., et al., *Repetitive behaviors in monkeys are linked to specific striatal activation patterns*. *J Neurosci*, 2004. **24**(34): p. 7557-65.
4. Cenci, M.A., C.S. Lee, and A. Bjorklund, *L-DOPA-induced dyskinesia in the rat is associated with striatal overexpression of prodynorphin- and glutamic acid decarboxylase mRNA*. *Eur J Neurosci*, 1998. **10**(8): p. 2694-706.
5. Ouachikh, O., et al., *Differential behavioral reinforcement effects of dopamine receptor agonists in the rat with bilateral lesion of the posterior ventral tegmental area*. *Behav Brain Res*, 2013. **252**: p. 24-31.
6. Riddle, J.L., S.L. Rokosik, and T.C. Napier, *Pramipexole- and methamphetamine-induced reward-mediated behavior in a rodent model of Parkinson's disease and controls*. *Behav Brain Res*, 2012. **233**(1): p. 15-23.
7. Braak, H., et al., *Alpha-synuclein is not a requisite component of synaptic boutons in the adult human central nervous system*. *J Chem Neuroanat*, 2000. **20**(3-4): p. 245-52.
8. Braak, H., et al., *Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology*. *Cell Tissue Res*, 2004. **318**(1): p. 121-34.
9. Braak, H., et al., *Stanley Fahn Lecture 2005: The staging procedure for the inclusion body pathology associated with sporadic Parkinson's disease reconsidered*. *Mov Disord*, 2006. **21**(12): p. 2042-51.
10. Polymeropoulos, M.H., et al., *Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease*. *Science*, 1997. **276**(5321): p. 2045-7.
11. Kalia, L.V. and A.E. Lang, *Parkinson's disease*. *Lancet*, 2015. **386**(9996): p. 896-912.
12. Pouloupoulos, M., O.A. Levy, and R.N. Alcalay, *The neuropathology of genetic Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2012. **27**(7): p. 831-42.
13. Healy, D.G., et al., *Phenotype, genotype, and worldwide genetic penetrance of LRRK2-associated Parkinson's disease: a case-control study*. *Lancet Neurol*, 2008. **7**(7): p. 583-90.
14. Sundal, C., et al., *Autosomal dominant Parkinson's disease*. *Parkinsonism Relat Disord*, 2012. **18 Suppl 1**: p. S7-10.
15. Lucking, C.B., et al., *Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene*. *N Engl J Med*, 2000. **342**(21): p. 1560-7.

16. Mori, H., et al., *Pathologic and biochemical studies of juvenile parkinsonism linked to chromosome 6q*. Neurology, 1998. **51**(3): p. 890-2.
17. Pramstaller, P.P., et al., *Lewy body Parkinson's disease in a large pedigree with 77 Parkin mutation carriers*. Ann Neurol, 2005. **58**(3): p. 411-22.
18. Abou-Sleiman, P.M., et al., *The role of pathogenic DJ-1 mutations in Parkinson's disease*. Ann Neurol, 2003. **54**(3): p. 283-6.
19. Valente, E.M., et al., *Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1*. Science, 2004. **304**(5674): p. 1158-60.
20. Samaranch, L., et al., *PINK1-linked parkinsonism is associated with Lewy body pathology*. Brain, 2010. **133**(Pt 4): p. 1128-42.
21. Wakabayashi, K., et al., *Parkinson's disease: the presence of Lewy bodies in Auerbach's and Meissner's plexuses*. Acta Neuropathol, 1988. **76**(3): p. 217-221.
22. Li, J.Y., et al., *Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation*. Nat Med, 2008. **14**(5): p. 501-3.
23. Hilton, D., et al., *Accumulation of alpha-synuclein in the bowel of patients in the pre-clinical phase of Parkinson's disease*. Acta Neuropathol, 2014. **127**(2): p. 235-41.
24. Shannon, K.M., et al., *Is alpha-synuclein in the colon a biomarker for premotor Parkinson's disease? Evidence from 3 cases*. Mov Disord, 2012. **27**(6): p. 716-9.
25. Hawkes, C.H., K. Del Tredici, and H. Braak, *Parkinson's disease: a dual-hit hypothesis*. Neuropathol Appl Neurobiol, 2007. **33**(6): p. 599-614.
26. Hughes, A.J., et al., *Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1992. **55**(3): p. 181-4.
27. Siderowf, A. and A.E. Lang, *Premotor Parkinson's disease: concepts and definitions*. Mov Disord, 2012. **27**(5): p. 608-16.
28. Haehner, A., et al., *Prevalence of smell loss in Parkinson's disease--a multicenter study*. Parkinsonism Relat Disord, 2009. **15**(7): p. 490-4.
29. Abbott, R.D., et al., *Frequency of bowel movements and the future risk of Parkinson's disease*. Neurology, 2001. **57**(3): p. 456-62.
30. Postuma, R.B., et al., *Quantifying the risk of neurodegenerative disease in idiopathic REM sleep behavior disorder*. Neurology, 2009. **72**(15): p. 1296-300.
31. Abbott, R.D., et al., *Excessive daytime sleepiness and subsequent development of Parkinson disease*. Neurology, 2005. **65**(9): p. 1442-6.
32. Courbon, F., et al., *Cardiac MIBG scintigraphy is a sensitive tool for detecting cardiac sympathetic denervation in Parkinson's disease*. Mov Disord, 2003. **18**(8): p. 890-7.
33. Becker, G., et al., *Degeneration of substantia nigra in chronic Parkinson's disease visualized by transcranial color-coded real-time sonography*. Neurology, 1995. **45**(1): p. 182-4.
34. Berg, D., et al., *Echogenicity of the substantia nigra: association with increased iron content and marker for susceptibility to nigrostriatal injury*. Arch Neurol, 2002. **59**(6): p. 999-1005.
35. Ruprecht-Dorfler, P., et al., *Echogenicity of the substantia nigra in relatives of patients with sporadic Parkinson's disease*. Neuroimage, 2003. **18**(2): p. 416-22.
36. Hely, M.A., et al., *Sydney Multicenter Study of Parkinson's disease: non-L-dopa-responsive problems dominate at 15 years*. Mov Disord, 2005. **20**(2): p. 190-9.
37. Barone, P., et al., *The PRIAMO study: A multicenter assessment of nonmotor symptoms and their impact on quality of life in Parkinson's disease*. Mov Disord, 2009. **24**(11): p. 1641-9.
38. Chaudhuri, K.R. and A.H. Schapira, *Non-motor symptoms of Parkinson's disease: dopaminergic pathophysiology and treatment*. Lancet Neurol, 2009. **8**(5): p. 464-74.

39. Hely, M.A., et al., *The Sydney multicenter study of Parkinson's disease: the inevitability of dementia at 20 years*. *Mov Disord*, 2008. **23**(6): p. 837-44.
40. Coelho, M. and J.J. Ferreira, *Late-stage Parkinson disease*. *Nat Rev Neurol*, 2012. **8**(8): p. 435-42.
41. Ehringer, H. and O. Hornykiewicz, [*Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system*]. *Klin Wochenschr*, 1960. **38**: p. 1236-9.
42. Poirier, L.J. and T.L. Sourkes, *INFLUENCE OF THE SUBSTANTIA NIGRA ON THE CATECHOLAMINE CONTENT OF THE STRIATUM*. *Brain*, 1965. **88**: p. 181-92.
43. Cotzias, G.C., M.H. Van Woert, and L.M. Schiffer, *Aromatic amino acids and modification of parkinsonism*. *N Engl J Med*, 1967. **276**(7): p. 374-9.
44. Carlsson, A., M. Lindqvist, and T. Magnusson, *3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists*. *Nature*, 1957. **180**(4596): p. 1200.
45. Jenner, P., *Functional models of Parkinson's disease: a valuable tool in the development of novel therapies*. *Ann Neurol*, 2008. **64 Suppl 2**: p. S16-29.
46. Spector, S., A. Sjoerdsma, and S. Udenfriend, *BLOCKADE OF ENDOGENOUS NOREPINEPHRINE SYNTHESIS BY ALPHA-METHYL-TYROSINE, AN INHIBITOR OF TYROSINE HYDROXYLASE*. *J Pharmacol Exp Ther*, 1965. **147**: p. 86-95.
47. Dolphin, A.C., P. Jenner, and C.D. Marsden, *The relative importance of dopamine and noradrenaline receptor stimulation for the restoration of motor activity in reserpine or alpha-methyl-p-tyrosine pre-treated mice*. *Pharmacol Biochem Behav*, 1976. **4**(6): p. 661-70.
48. Niswender, C.M., et al., *Discovery, characterization, and antiparkinsonian effect of novel positive allosteric modulators of metabotropic glutamate receptor 4*. *Mol Pharmacol*, 2008. **74**(5): p. 1345-58.
49. Ungerstedt, U., *6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons*. *Eur J Pharmacol*, 1968. **5**(1): p. 107-10.
50. Duty, S. and P. Jenner, *Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease*. *Br J Pharmacol*, 2011. **164**(4): p. 1357-91.
51. Sakai, K. and D.M. Gash, *Effect of bilateral 6-OHDA lesions of the substantia nigra on locomotor activity in the rat*. *Brain Res*, 1994. **633**(1-2): p. 144-50.
52. Luthman, J., et al., *Effects of d-amphetamine and methylphenidate on hyperactivity produced by neonatal 6-hydroxydopamine treatment*. *Psychopharmacology (Berl)*, 1989. **99**(4): p. 550-7.
53. Mazziro, E.A., R.R. Reams, and K.F. Soliman, *The role of oxidative stress, impaired glycolysis and mitochondrial respiratory redox failure in the cytotoxic effects of 6-hydroxydopamine in vitro*. *Brain Res*, 2004. **1004**(1-2): p. 29-44.
54. Glinka, Y., M. Gassen, and M.B. Youdim, *Mechanism of 6-hydroxydopamine neurotoxicity*. *J Neural Transm Suppl*, 1997. **50**: p. 55-66.
55. German, D.C., et al., *Midbrain dopaminergic cell loss in Parkinson's disease: computer visualization*. *Ann Neurol*, 1989. **26**(4): p. 507-14.
56. Hefti, F., et al., *Circling behavior in rats with partial, unilateral nigro-striatal lesions: effect of amphetamine, apomorphine, and DOPA*. *Pharmacol Biochem Behav*, 1980. **12**(2): p. 185-8.
57. Bevan, P., *Repeated apomorphine treatment causes behavioural supersensitivity and dopamine D2 receptor hyposensitivity*. *Neurosci Lett*, 1983. **35**(2): p. 185-9.
58. Duty, S. and J.M. Brotchie, *Enhancement of the behavioral response to apomorphine administration following repeated treatment in the 6-hydroxydopamine-lesioned rat is temporally correlated with a rise in striatal*

- preproenkephalin-B, but not preproenkephalin-A, gene expression. Exp Neurol, 1997. 144(2): p. 423-32.*
59. Langston, J.W., et al., *Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. Science, 1983. 219(4587): p. 979-80.*
 60. Blesa, J., et al., *Progression of dopaminergic depletion in a model of MPTP-induced Parkinsonism in non-human primates. An (18)F-DOPA and (11)C-DTBZ PET study. Neurobiol Dis, 2010. 38(3): p. 456-63.*
 61. Betarbet, R., et al., *Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. Nat Neurosci, 2000. 3(12): p. 1301-6.*
 62. Cicchetti, F., et al., *Systemic exposure to paraquat and maneb models early Parkinson's disease in young adult rats. Neurobiol Dis, 2005. 20(2): p. 360-71.*
 63. Masliah, E., et al., *Dopaminergic loss and inclusion body formation in alpha-synuclein mice: implications for neurodegenerative disorders. Science, 2000. 287(5456): p. 1265-9.*
 64. Blesa, J. and S. Przedborski, *Parkinson's disease: animal models and dopaminergic cell vulnerability. Front Neuroanat, 2014. 8: p. 155.*
 65. Kirik, D., et al., *Parkinson-like neurodegeneration induced by targeted overexpression of alpha-synuclein in the nigrostriatal system. J Neurosci, 2002. 22(7): p. 2780-91.*
 66. AlDakheel, A., L.V. Kalia, and A.E. Lang, *Pathogenesis-targeted, disease-modifying therapies in Parkinson disease. Neurotherapeutics, 2014. 11(1): p. 6-23.*
 67. Connolly, B.S. and A.E. Lang, *Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. Jama, 2014. 311(16): p. 1670-83.*
 68. Weiner, W.J., *An algorithm (decision tree) for the management of Parkinson's disease (2001): treatment guidelines. Neurology, 2002. 58(1): p. 156; author reply 156-7.*
 69. Ives, N.J., et al., *Monoamine oxidase type B inhibitors in early Parkinson's disease: meta-analysis of 17 randomised trials involving 3525 patients. Bmj, 2004. 329(7466): p. 593.*
 70. Rascol, O., et al., *A double-blind, delayed-start trial of rasagiline in Parkinson's disease (the ADAGIO study): prespecified and post-hoc analyses of the need for additional therapies, changes in UPDRS scores, and non-motor outcomes. Lancet Neurol, 2011. 10(5): p. 415-23.*
 71. Vitale, C., et al., *Impulse control disorders induced by rasagiline as adjunctive therapy for Parkinson's disease: report of 2 cases. Parkinsonism Relat Disord, 2013. 19(4): p. 483-4.*
 72. Schwab, R.S., et al., *Amantadine in Parkinson's disease. Review of more than two years' experience. Jama, 1972. 222(7): p. 792-5.*
 73. *Amantadine and other antiglutamate agents: management of Parkinson's disease. Mov Disord, 2002. 17 Suppl 4: p. S13-22.*
 74. Crosby, N.J., K.H. Deane, and C.E. Clarke, *Amantadine for dyskinesia in Parkinson's disease. Cochrane Database Syst Rev, 2003(2): p. Cd003467.*
 75. Ory-Magne, F., et al., *Withdrawing amantadine in dyskinesic patients with Parkinson disease: the AMANDYSK trial. Neurology, 2014. 82(4): p. 300-7.*
 76. Ruottinen, H.M. and U.K. Rinne, *COMT inhibition in the treatment of Parkinson's disease. J Neurol, 1998. 245(11 Suppl 3): p. P25-34.*
 77. Tsang, K.L., S.L. Ho, and S.K. Lo, *Estrogen improves motor disability in parkinsonian postmenopausal women with motor fluctuations. Neurology, 2000. 54(12): p. 2292-8.*
 78. Bjornestad, A., et al., *Risk and course of motor complications in a population-based incident Parkinson's disease cohort. Parkinsonism Relat Disord, 2016. 22: p. 48-53.*

79. Melamed, E., I. Ziv, and R. Djaldetti, *Management of motor complications in advanced Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2007. **22 Suppl 17**: p. S379-84.
80. Cilia, R., et al., *The modern pre-levodopa era of Parkinson's disease: insights into motor complications from sub-Saharan Africa*. *Brain*, 2014. **137**(Pt 10): p. 2731-42.
81. Oliveri, R.L., et al., *Dopamine D2 receptor gene polymorphism and the risk of levodopa-induced dyskinesias in PD*. *Neurology*, 1999. **53**(7): p. 1425-30.
82. Kaplan, N., et al., *Sequence variants in SLC6A3, DRD2, and BDNF genes and time to levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease*. *J Mol Neurosci*, 2014. **53**(2): p. 183-8.
83. Rieck, M., et al., *Is there a role for ADORA2A polymorphisms in levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease patients?* *Pharmacogenomics*, 2015. **16**(6): p. 573-82.
84. Zappia, M., et al., *Sex differences in clinical and genetic determinants of levodopa peak-dose dyskinesias in Parkinson disease: an exploratory study*. *Arch Neurol*, 2005. **62**(4): p. 601-5.
85. Fearnley, J.M. and A.J. Lees, *Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity*. *Brain*, 1991. **114 (Pt 5)**: p. 2283-301.
86. Jankovic, J., *Motor fluctuations and dyskinesias in Parkinson's disease: clinical manifestations*. *Mov Disord*, 2005. **20 Suppl 11**: p. S11-6.
87. Magrinelli, F., et al., *Pathophysiology of Motor Dysfunction in Parkinson's Disease as the Rationale for Drug Treatment and Rehabilitation*. *Parkinsons Dis*, 2016. **2016**: p. 9832839.
88. Hedrich, K., et al., *Evaluation of 50 probands with early-onset Parkinson's disease for Parkin mutations*. *Neurology*, 2002. **58**(8): p. 1239-46.
89. Jenner, P., *Molecular mechanisms of L-DOPA-induced dyskinesia*. *Nat Rev Neurosci*, 2008. **9**(9): p. 665-77.
90. Rajput, A.H., et al., *Is levodopa toxic to human substantia nigra?* *Mov Disord*, 1997. **12**(5): p. 634-8.
91. Boyce, S., et al., *Nigrostriatal damage is required for induction of dyskinesias by L-DOPA in squirrel monkeys*. *Clin Neuropharmacol*, 1990. **13**(5): p. 448-58.
92. Pearce, R.K., et al., *L-dopa induces dyskinesia in normal monkeys: behavioural and pharmacokinetic observations*. *Psychopharmacology (Berl)*, 2001. **156**(4): p. 402-9.
93. Kempster, P.A., et al., *Levodopa peripheral pharmacokinetics and duration of motor response in Parkinson's disease*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1989. **52**(6): p. 718-23.
94. Olanow, C.W., J.A. Obeso, and F. Stocchi, *Continuous dopamine-receptor treatment of Parkinson's disease: scientific rationale and clinical implications*. *Lancet Neurol*, 2006. **5**(8): p. 677-87.
95. Rascol, O., et al., *Development of dyskinesias in a 5-year trial of ropinirole and L-dopa*. *Mov Disord*, 2006. **21**(11): p. 1844-50.
96. Stocchi, F., et al., *Intermittent vs continuous levodopa administration in patients with advanced Parkinson disease: a clinical and pharmacokinetic study*. *Arch Neurol*, 2005. **62**(6): p. 905-10.
97. Calon, F., et al., *Changes of GABA receptors and dopamine turnover in the postmortem brains of parkinsonians with levodopa-induced motor complications*. *Mov Disord*, 2003. **18**(3): p. 241-53.
98. Cenci, M.A. and M. Lundblad, *Post- versus presynaptic plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia*. *J Neurochem*, 2006. **99**(2): p. 381-92.
99. Marsden, C.D. and J.D. Parkes, *"On-off" effects in patients with Parkinson's disease on chronic levodopa therapy*. *Lancet*, 1976. **1**(7954): p. 292-6.

100. Martinez-Fernandez, R., et al., *The hidden sister of motor fluctuations in Parkinson's disease: A review on nonmotor fluctuations*. *Mov Disord*, 2016.
101. Menza, M.A., et al., *Mood changes and "on-off" phenomena in Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 1990. **5**(2): p. 148-51.
102. Maricle, R.A., et al., *Dose-response relationship of levodopa with mood and anxiety in fluctuating Parkinson's disease: a double-blind, placebo-controlled study*. *Neurology*, 1995. **45**(9): p. 1757-60.
103. Storch, A., et al., *Quantitative assessment of non-motor fluctuations in Parkinson's disease using the Non-Motor Symptoms Scale (NMSS)*. *J Neural Transm (Vienna)*, 2015. **122**(12): p. 1673-84.
104. Fenelon, G., et al., *Hallucinations in Parkinson's disease: prevalence, phenomenology and risk factors*. *Brain*, 2000. **123 (Pt 4)**: p. 733-45.
105. Poewe, W., *Psychosis in Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2003. **18 Suppl 6**: p. S80-7.
106. Goetz, C.G., et al., *Early dopaminergic drug-induced hallucinations in parkinsonian patients*. *Neurology*, 1998. **51**(3): p. 811-4.
107. Reading, P.J., A.K. Luce, and I.G. McKeith, *Rivastigmine in the treatment of parkinsonian psychosis and cognitive impairment: preliminary findings from an open trial*. *Mov Disord*, 2001. **16**(6): p. 1171-4.
108. Zurowski, M. and J.D. O'Brien, *Developments in impulse control behaviours of Parkinson's disease*. *Curr Opin Neurol*, 2015. **28**(4): p. 387-92.
109. Weintraub, D., et al., *Clinical spectrum of impulse control disorders in Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2015. **30**(2): p. 121-7.
110. Voon, V. and S.H. Fox, *Medication-related impulse control and repetitive behaviors in Parkinson disease*. *Arch Neurol*, 2007. **64**(8): p. 1089-96.
111. Weintraub, D., et al., *Impulse control disorders in Parkinson disease: a cross-sectional study of 3090 patients*. *Arch Neurol*, 2010. **67**(5): p. 589-95.
112. Antonini, A., et al., *Impulsivity and compulsivity in drug-naive patients with Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2011. **26**(3): p. 464-8.
113. Bastiaens, J., et al., *Prospective cohort study of impulse control disorders in Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2013. **28**(3): p. 327-33.
114. Giovannoni, G., et al., *Hedonistic homeostatic dysregulation in patients with Parkinson's disease on dopamine replacement therapies*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2000. **68**(4): p. 423-8.
115. O'Sullivan, S.S., A.H. Evans, and A.J. Lees, *Dopamine dysregulation syndrome: an overview of its epidemiology, mechanisms and management*. *CNS Drugs*, 2009. **23**(2): p. 157-70.
116. Pezzella, F.R., et al., *Prevalence and clinical features of hedonistic homeostatic dysregulation in Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2005. **20**(1): p. 77-81.
117. Evans, A.H., et al., *Factors influencing susceptibility to compulsive dopaminergic drug use in Parkinson disease*. *Neurology*, 2005. **65**(10): p. 1570-4.
118. Evans, A.H., et al., *Punding in Parkinson's disease: its relation to the dopamine dysregulation syndrome*. *Mov Disord*, 2004. **19**(4): p. 397-405.
119. Rylander, G., *Psychoses and the punding and choreiform syndromes in addiction to central stimulant drugs*. *Psychiatr Neurol Neurochir*, 1972. **75**(3): p. 203-12.
120. Miyasaki, J.M., et al., *Punding prevalence in Parkinson's disease*. *Movement Disorders*, 2007. **22**(8): p. 1179-1181.
121. Silveira-Moriyama, L., et al., *Punding and dyskinesias*. *Movement Disorders*, 2006. **21**(12): p. 2214-2217.
122. Miwa, H., et al., *Stereotyped behaviors or punding after quetiapine administration in Parkinson's disease*. *Parkinsonism & related disorders*, 2004. **10**(3): p. 177-180.

123. Zhang, G., et al., *Impulsive and Compulsive Behaviors in Parkinson's Disease*. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2014. **6**(318).
124. O'Sullivan, S.S., et al., *Cue-induced striatal dopamine release in Parkinson's disease-associated impulsive-compulsive behaviours*. *Brain*, 2011. **134**(Pt 4): p. 969-78.
125. Evans, A.H., et al., *Compulsive drug use linked to sensitized ventral striatal dopamine transmission*. *Ann Neurol*, 2006. **59**(5): p. 852-8.
126. Frosini, D., et al., *Parkinson's disease and pathological gambling: results from a functional MRI study*. *Mov Disord*, 2010. **25**(14): p. 2449-53.
127. Santangelo, G., et al., *Cognitive dysfunctions and pathological gambling in patients with Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2009. **24**(6): p. 899-905.
128. Cenci, M.A., et al., *Rodent models of impulsive-compulsive behaviors in Parkinson's disease: How far have we reached?* *Neurobiol Dis*, 2015. **82**: p. 561-73.
129. Creese, I. and S.D. Iversen, *The role of forebrain dopamine systems in amphetamine induced stereotyped behavior in the rat*. *Psychopharmacologia*, 1974. **39**(4): p. 345-57.
130. Hadamitzky, M., et al., *Development of stereotyped behaviors during prolonged escalation of methamphetamine self-administration in rats*. *Psychopharmacology (Berl)*, 2012. **223**(3): p. 259-69.
131. Canales, J.J. and A.M. Graybiel, *A measure of striatal function predicts motor stereotypy*. *Nat Neurosci*, 2000. **3**(4): p. 377-83.
132. Moratalla, R., et al., *Network-level changes in expression of inducible Fos-Jun proteins in the striatum during chronic cocaine treatment and withdrawal*. *Neuron*, 1996. **17**(1): p. 147-56.
133. Delfs, J.M. and A.E. Kelley, *The role of D1 and D2 dopamine receptors in oral stereotypy induced by dopaminergic stimulation of the ventrolateral striatum*. *Neuroscience*, 1990. **39**(1): p. 59-67.
134. Wang, J.Q. and J.F. McGinty, *Alterations in striatal zif/268, preprodynorphin and preproenkephalin mRNA expression induced by repeated amphetamine administration in rats*. *Brain Res*, 1995. **673**(2): p. 262-74.
135. Xu, M., et al., *Behavioral responses to cocaine and amphetamine administration in mice lacking the dopamine D1 receptor*. *Brain Res*, 2000. **852**(1): p. 198-207.
136. Maries, E., et al., *Focal not widespread grafts induce novel dyskinetic behavior in parkinsonian rats*. *Neurobiol Dis*, 2006. **21**(1): p. 165-80.
137. Breger, L.S., S.B. Dunnett, and E.L. Lane, *Comparison of rating scales used to evaluate L-DOPA-induced dyskinesia in the 6-OHDA lesioned rat*. *Neurobiol Dis*, 2013. **50**: p. 142-50.
138. Sierra, M., et al., *Apathy and Impulse Control Disorders: Yin & Yang of Dopamine Dependent Behaviors*. *J Parkinsons Dis*, 2015. **5**(3): p. 625-36.
139. Fox, S.H., et al., *Dopamine receptor agonists and levodopa and inducing psychosis-like behavior in the MPTP primate model of Parkinson disease*. *Arch Neurol*, 2006. **63**(9): p. 1343-4.
140. Zengin-Toktas, Y., et al., *Motivational properties of D2 and D3 dopamine receptors agonists and cocaine, but not with D1 dopamine receptors agonist and L-dopa, in bilateral 6-OHDA-lesioned rat*. *Neuropharmacology*, 2013. **70**: p. 74-82.
141. Engeln, M., et al., *Levodopa gains psychostimulant-like properties after nigral dopaminergic loss*. *Ann Neurol*, 2013. **74**(1): p. 140-4.
142. Ouachikh, O., et al., *Anterior ventral tegmental area dopaminergic neurons are not involved in the motivational effects of bromocriptine, pramipexole and cocaine in drug-free rats*. *Behav Brain Res*, 2014. **262**: p. 1-7.
143. Engeln, M., et al., *Reinforcing properties of Pramipexole in normal and parkinsonian rats*. *Neurobiol Dis*, 2013. **49**: p. 79-86.

144. Campbell, J.C., et al., *Place conditioning to apomorphine in rat models of Parkinson's disease: differences by dose and side-effect expression*. Behav Brain Res, 2014. **275**: p. 114-9.
145. Pellegrino, L.J. and A.J. Cushman, *A stereotaxic atlas of the rat brain*. 1967: Appleton-Century-Crofts.
146. Paille, V., et al., *Rat model of Parkinson's disease with bilateral motor abnormalities, reversible with levodopa, and dyskinesias*. Mov Disord, 2007. **22**(4): p. 533-9.
147. Drui, G., et al., *Loss of dopaminergic nigrostriatal neurons accounts for the motivational and affective deficits in Parkinson's disease*. Mol Psychiatry, 2014. **19**(3): p. 358-67.
148. Saka, E., et al., *Compartmental changes in expression of c-Fos and FosB proteins in intact and dopamine-depleted striatum after chronic apomorphine treatment*. Brain Res, 1999. **825**(1-2): p. 104-14.