

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**ERKEN BAŞLANGIÇLI VE İDİYOPATİK PARKİNSON  
HASTALARINDA GBA GEN MUTASYONLARININ  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. ÖZLEM ANLAŞ**

**DANIŞMAN  
PROF.DR. GÜLSEREN BAĞCI**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 19.10.2016 tarih ve 2016TIPF023 nolu kararı ile desteklenmiştir.

**DENİZLİ – 2017**

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**ERKEN BAŞLANGIÇLI VE İDİYOPATİK PARKİNSON  
HASTALARINDA GBA GEN MUTASYONLARININ  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. ÖZLEM ANLAŞ**

**DANIŞMAN  
PROF.DR. GÜLSEREN BAĞCI**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 19.10.2016 tarih ve 2016TIPF023 nolu kararı ile desteklenmiştir.

**DENİZLİ - 2017**

Prof. Dr. Gülseren BAĞCI danışmanlığında Dr. Özlem ANLAŞ tarafından yapılan “Erken Başlangıçlı ve İdiyopatik Parkinson Hastalarında GBA Gen Mutasyonlarının Araştırılması” başlıklı tez çalışması 19/12/2017 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN



Prof. Dr. Gülseren BAĞCI.

ÜYE



Prof. Dr. Gökay BOZKURT

ÜYE



Prof. Dr. C. Nur SEMERCI GÜNDÜZ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım  
30.10.2018

Prof. Dr. Semir Melahat FENKİCİ

.....

Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam sırasında bilgilerini ve önerilerini esirgemeyen hocam Prof. Dr. Gülseren BAĞCI'ya; tecrübeleri, hoşgöröleri ve destekleri ile her zaman yanımda olan hocalarım Prof. Dr. Vildan CANER, Doç. Dr. G. Ozan etin, Prof. Dr. C. Nur SEMERCİ GÜNDÜZ, Prof. Dr. Fösun DÜZCAN, Doç. Dr. Emre Tepeli'ye; tez çalışmamdaki büyük emeklerinden, yardımlarından ve katkılarından dolayı Prof. Dr. Göksemin DEMİR'e; laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarından dolayı Arş. Gör. Dr. Menekşe ÖZTÜRK, Samet TÜREL, Halime ZIRH ve Sevilay ATLI TEKİN'e; deneyimlerini benimle paylaşan Uzm. Dr. Bilge SARIKEPE'ye; istatistiksel analizlerdeki yardımlarından dolayı Hande ŐENOL'a; asistanlık eğitimim sürecinde birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan ve uzman ark.ma ve çalışma ark.ma; tez süresince manevi desteklerini eksik etmeyen sevgili eşim Emre Can ANLAŞ'a ve aileme teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
TABLolar DİZİNİ.....	XIII
ÖZET.....	XV
İNGİLİZCE ÖZET.....	XVII
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
PARKİNSON HASTALIĞI.....	4
Tanımı ve Tarihçesi.....	4
Klinik Bulgular ve Tanı.....	5
<i>Bradikinezi</i> .....	7
<i>Tremor</i> .....	8
<i>Rijidite</i> .....	10
<i>Postural İnstabilite</i> .....	10
PH Alt Tipleri.....	10
Non-Motor Bulgular.....	10
PH Değerlendirmede Kullanılan Ölçekler.....	12

## *Birleştirilmiş Parkinson Hastalığı Derecelendirme*

<i>Ölçeği</i> .....	12
<i>Hoehn ve Yahr (H&amp;Y) ölçeği</i> .....	13
<i>Non-Motor Belirtileri Değerlendirme Ölçeği</i> .....	13
<i>Mini Mental Durum Muayene Testi</i> .....	14
<i>Addenbrook Kognitif Muayenesi</i> .....	15
<b>Risk Faktörleri ve Nedenleri</b> .....	15
<b>Bazal Gangliyon Nöroanatomisi</b> .....	16
<b>Parkinson Hastalığı Patofizyolojisi</b> .....	20
<b>PARKİNSON HASTALIĞININ GENETİĞİ</b> .....	22
<b>GBA GENİ ve GLUKOSEREBROZİDAZ ENZİMİ</b> .....	24
<b>GAUCHER HASTALIĞI</b> .....	25
<b>PARKİNSON HASTALIĞI ve GBA GENİ</b> .....	26
<b>PARKİNSON HASTALIĞI TEDAVİSİ</b> .....	28
<b>MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	29
<b>MATERYAL</b> .....	29
<b>YÖNTEMLER</b> .....	31
<b>DNA İzolasyonu</b> .....	31
<b>Genomik DNA Örneklerinin Konsantrasyonlarının ve Safılık Değerlerinin Belirlenmesi</b> .....	31
<b>Mutasyonların Gerçek Zamanlı PCR (<i>RealTime PCR</i>) Yöntemi ile Belirlenmesi</b> .....	32

Periferik Kan Örneklerinden RNA İzolasyonu.....	34
RNA Örneklerinin Konsantrasyonlarının ve Saflık Değerlerinin Belirlenmesi.....	35
cDNA Sentezi.....	36
Ekspresyonların Gerçek Zamanlı Kantitatif PCR Yöntemi İle Belirlenmesi.....	37
İstatistiksel Analiz.....	39
<b>BULGULAR.....</b>	<b>40</b>
Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik ve Klinik Özellikleri.....	41
Hasta Ve Kontrol Gruplarının Mutasyon Analizlerinin Sonuçları.....	57
Hasta Ve Kontrol Gruplarının Ekspresyon Analizlerinin Sonuçları.....	58
<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>62</b>
<b>SONUÇLAR.....</b>	<b>77</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>79</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>91</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>aa</b>	Aminoasit
<b>ACE-R</b>	Addenbrook kognitif muayenesi
<b>° C</b>	Santigrat derece
<b>C<sub>T</sub></b>	Threshold cycle
<b>ΔΔC<sub>t</sub></b>	Comparative C <sub>t</sub>
<b>Ca</b>	Kalsiyum
<b>cDNA</b>	Komplementer DNA
<b>COMT</b>	Katekol-O-metiltransferz
<b>DBS</b>	Derin beyin stimülasyonu
<b>dk</b>	Dakika
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>dsDNA</b>	Double-stranded DNA
<b>ER</b>	Endoplazmik retikulum
<b>ET</b>	Esansiyel tremor
<b>ETZ</b>	Elektron transport zinciri
<b>GABA</b>	Gama amino bütirik asit
<b>GBA</b>	Glukoserebrozidaz
<b>GCase</b>	Glukoserebrozidaz enzimi
<b>GlcSer</b>	Glukozilseramidi
<b>GPe</b>	Globul pallidus eksternal segment
<b>GPI</b>	Globul pallidus internal segment
<b>H&amp;Y</b>	Hoehn ve Yahr ölçeği
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IFN-γ</b>	İnterferon- γ
<b>IL-1β</b>	İnterlökin-1β



<b>kb</b>	Kilobaz
<b>KC</b>	Karaciğer
<b>LAMP2A</b>	Lysosomal-associated membrane protein 2A
<b>L-DOPA</b>	L-3,4-dihidroksifenilalanin
<b>LOS</b>	Lizozomal otofaji sistemi
<b>MAOB</b>	Monoamin oksidaz tip B
<b>MDS</b>	Uluslararası Parkinson ve Hareket Bozuklukları Topluluğu
<b>MIBG</b>	Metaiodobenzilguanidin
<b>µl</b>	Mikrolitre
<b>ml</b>	Mililitre
<b>MIBG</b>	Metaiodobenzilguanidin
<b>MMSE</b>	Mini Mental Durum Muayene testi
<b>MTHP</b>	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
<b>NSAİİ</b>	Non-steroid antiinflamatuvar ilaç
<b>OD</b>	Otozomal dominant
<b>OR</b>	Otozomal resesif
<b>PCR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>PH</b>	Parkinson hastalığı
<b>RCF</b>	Relative centrifugal force (bağıl santrifüj kuvveti)
<b>REM</b>	Rapid Eye Movement (Hızlı göz hareketleri)
<b>RNA</b>	Ribonükleik asit
<b>RPM</b>	Rotatory per minute (dakikadaki dönüş sayısı)
<b>sn</b>	Saniye
<b>SN</b>	Substantia nigra
<b>SNc</b>	Substantia nigra pars kompakta
<b>SNP</b>	Single (tek) nükleotid polimorfizm

<b>SNr</b>	Substantia nigra pars retikulata pars kompakta
<b>SSS</b>	Santral sinir sisteminde
<b>STN</b>	Subtalamik nükleus
<b>TIM</b>	Trioz fosfat izomeraz
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tümör nekrozis faktör- $\alpha$
<b>UPDRS</b>	Birleştirilmiş Parkinson Hastalığı Derecelendirme leği

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
<b>Şekil 1</b>	PH'nın klinik progresyonu..... 12
<b>Şekil 2</b>	Bazal gangliyon anatomisi..... 16
<b>Şekil 3</b>	Bazal gangliyonların fonksiyonel organizasyonu..... 17
<b>Şekil 4</b>	Kortiko-bazal gangliyo-talamo-kortikal yol..... 18
<b>Şekil 5</b>	Parkinsonizmde Kortiko-bazal gangliyo-talamo-kortikal yolda meydana gelen değişiklikler..... 19
<b>Şekil 6</b>	<b>a;</b> $\alpha$ -sinüklein fizyolojik ve patolojik konformasyonu.....20
	<b>b;</b> İntranöronal Lewy cisimciği.....20
<b>Şekil 7</b>	İnsan GBA geni başlangıç kodonları..... 24
<b>Şekil 8</b>	Parametrelerin grafikler ile genç PH ve idiyopatik PH arasında ayrı ayrı karşılaştırılması.....44
<b>Şekil 9</b>	Parametrelerin GBA mutasyonu saptanan ve saptanmayan hastalar arasında grafiklerle ayrı ayrı karşılaştırılması.....47
<b>Şekil 10:</b>	Mutasyon saptanan ve saptanmayan hastaların parametrelerinin grafik ile karşılaştırılması.....49
<b>Şekil 11:</b>	Genç yaş ve idiyopatik PH'nın kognitif performans açısından karşılaştırılması..... 55
<b>Şekil 12:</b>	GBA mutasyonu saptanan ve saptanmayan PH'nın kognitif performans açısından karşılaştırılması..... 56
<b>Şekil 13</b>	GBA geni rs421016 (L444P) mutasyonuna ait erime eğrisi analizi..... 57
<b>Şekil 14</b>	GBA geni rs7582236 (R496H) mutasyonuna ait erime eğrisi analizi..... 58

<b>Şekil 15</b>	Hasta grubunun hedef gen olan GBA ve referans gen olan GAPDH genlerine ait amplifikasyon eğrileri.....	59
<b>Şekil 16</b>	Kontrol grubunun hedef gen olan GBA ve referans gen olan GAPDH genlerine ait amplifikasyon eğrileri.....	59
<b>Şekil 17</b>	Hasta ve kontrol grubunun GBA $\Delta C_T$ değerlerinin grafikte gösterilmesi.....	60

## TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa No
<b>Tablo 1</b>	PH ve esansiyel tremor ayırıcı tanısı.....9
<b>Tablo 2</b>	PH'nın erken ve geç motor ve non-motor belirtileri..... 11
<b>Tablo 3</b>	Orijinal ve modifiye H&Y ölçeği..... 13
<b>Tablo 4</b>	Parkinson Hastalığı risk faktörleri..... 15
<b>Tablo 5</b>	PH genetiğinden sorumlu genler.....23
<b>Tablo 6</b>	Hasta grubu için çalışmaya dahil olma ve dışlama kriterleri..... 30
<b>Tablo 7</b>	Kontrol grubu için çalışmaya dahil olma ve dışlama kriterleri.....30
<b>Tablo 8</b>	GBA genindeki 11 SNP için hazırlanan reaksiyon karışımı..... 33
<b>Tablo 9</b>	Mutasyon analizinde kullanılan gerçek zamanlı PCR protokolü.....34
<b>Tablo 10</b>	cDNA sentezinde tek bir örnek için hazırlanan master mix karışımı .....36
<b>Tablo 11</b>	cDNA sentezinde Thermal Cycler cihazında uygulanan basmaklar..... 36
<b>Tablo 12</b>	GBA (hedef gen) ve GAPDH (referans gen) genlerinin mRNA ekspresyon analizi için hazırlanan reaksiyon karışımı..... 37
<b>Tablo 13</b>	Ekspresyon analizi için kullanılan Real Time PCR protokolü..... 38
<b>Tablo 14</b>	Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri..... 41
<b>Tablo 15:</b>	Hasta ve kontrol grubunda saptanan GBA mutasyon oranları ve saptanan mutasyonlarının dağılımı.....42
<b>Tablo 16:</b>	Parametrelerin genç PH-idiyopatik PH arasında ayrı

	ayrı karşılaştırılması.....	43
<b>Tablo 17:</b>	Parametrelerin GBA mutasyonu saptanan ve saptanmayan hastalar arasında ayrı ayrı karşılaştırılması.....	46
<b>Tablo 18:</b>	Mutasyon saptanan ve saptanmayan hastaların parametrelerinin karşılaştırılması.....	49
<b>Tablo 19:</b>	Mutasyon saptanan hastaların klinik özellikleri.....	51
<b>Tablo 20:</b>	Hastaların eğitim düzeylerine göre MMSE eşik değerleri ve değerlere göre hastaların dağılımı.....	53
<b>Tablo 21:</b>	Hastaların eğitim düzeylerine göre ACE-R eşik değerleri ve değerlere göre hastaların dağılımı.....	54
<b>Tablo 22:</b>	MMSE ve ACE-R testlerinin kognitif bozukluk saptanan hastaları belirleme oranları.....	55
<b>Tablo 23:</b>	Hastaların DBS takılma oranları ve zamanları.....	56
<b>Tablo 24:</b>	Hasta ve kontrol grubunun GBA $\Delta C_T$ değerleri.....	60
<b>Tablo 25:</b>	Hastaların lökosit glukoserebrozidaz enzim düzeyi ortalamaları...	61

## ÖZET

### **Erken başlangıçlı ve idiyopatik parkinson hastalarında GBA gen mutasyonlarının araştırılması**

Dr.Özlem ANLAŞ

Parkinson hastalığı (PH) ikinci en sık nörodejeneratif hastalık olup görülme sıklığı 65 yaş üstü popülasyonda %1, 85 yaş üstünde ise yaklaşık %5'tir. Hastalığın kardinal bulguları; istirahat tremoru, bradikinezi, rijidite ve yürüyüş bozukluğudur. Hastalık erkeklerde daha sık görülmektedir. Bunun yanı sıra hastalarda otonomik disfonksiyon, kognitif bozukluk, depresyon, olfaktör ve diğer duyuşal defisitler ve uyku bozuklukları gibi non-motor bulgular da görülebilmekte ve bu bulgular hastalık başlamadan yıllar önce ortaya çıkabilmektedir. Parkinson hastalığının motor bulguları substantia nigra (SN) pars kompakta'da yer alan dopaminerjik nöronların kaybına bağlı ortaya çıkmaktadır. Hastalığın tedavisinde L-DOPA kullanılmaktadır. Hastalığın etiyojisinde çeşitli çevresel ve genetik faktörler rol oynamaktadır. SCNA, LRRK2 ve PARK genleri Parkinson hastalığından sorumlu tutulan genlerdir. Bu genlerin yanı sıra, son zamanlarda yapılan çalışmalarla GBA geni ve PH arasında önemli bir ilişki saptanmıştır. GBA genindeki mutasyonlar, PH patogenezinde önemli yer tutmaktadır. Çalışmamızda 33 genç ve 38 idiyopatik olmak üzere toplam 71 Parkinson hastası ve 116 sağlıklı kontrolde GBA genindeki en sık 11 mutasyon analiz edildi. Analiz sonucunda 11 (%15,5) hasta ve 3 (%2,6) kontrolde mutasyon tespit edildi. 10 hasta ve 3 kontrolde R496H mutasyonu saptanırken sadece 1 hastada L444P mutasyonu saptandı. Mutasyon saptanan hastalardan ve sağlıklı kontrollerden lökosit GBA ekspresyon düzeylerine bakıldı ve hastalarda kontrollere göre anlamlı düşüklük saptandı (p=0,04). Mutasyon saptanan hastalardan bakılan lökosit glukoserebrozidaz enzim düzeyleri ise normal saptandı. Sonuç olarak, Parkinson hastalarında GBA gen mutasyonları kontrole göre anlamlı şekilde fazla bulundu(p=0,001). Lökosit GBA ekspresyonunda hastalarda kontrole göre anlamlı düşüklük saptanırken hastaların lökosit glukoserebrozidaz enzim düzeyleri normal saptandı. Bu çalışma, Parkinson hastalığı ve GBA geni arasındaki ilişkiyi açıklamaya yönelik ülkemizde yapılan ilk çalışmadır. GBA geni ve Parkinson hastalığı

arasındaki ilişkiye yönelik çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. Bu ilişkinin açığa kavuşturulması, *GBA*'nın PH patogenezindeki yerinin belirlenmesi ve bunlara yönelik yeni hedef moleküller belirlenmesi açısından bu tür çalışmalar oldukça önemlidir. Gelecekte Parkinson hastalığının bu mekanizmalar üzerinden tedavi edilebilmesi fikri, araştırmacıları daha fazla çalışma yapmaya yöneltmektedir. Parkinson hastalarında *GBA* gen mutasyon taşıyıcılığının araştırılması, tüm bu çalışmalara destek olmak açısından son derece önemlidir.

Anaktar kelimeler: Parkinson hastalığı, *GBA*, mutasyon, ekspresyon, glukoserebrozidaz, enzim düzeyi



## SUMMARY

### **Investigation of GBA gene mutations in early onset and idiopathic Parkinson's disease**

Dr.Özlem ANLAŞ

Parkinson's disease (PH) is the second most common neurodegenerative disease, with an incidence of over 1% in the population over 65 years of age and about 5% over the age of 85 years. Cardinal findings of the disease; rest tremor, bradykinesia, rigidity and gait disturbance. The disease is more common in men. In addition, non-motor findings such as autonomic dysfunction, cognitive impairment, depression, olfactor and other sensory deficits and sleep disturbances can be seen in patients, and these findings may appear for years before the disease begins. The motor findings of Parkinson's disease are due to the loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra (SN) pars compacta. The treatment of the disease is also a substitution of dopamine, which is incomplete. Various environmental and genetic factors play a role in the etiology of the disease. SCNA, LRRK2 and PARK genes are genes responsible for Parkinson's disease. In addition to these genes, recent studies have established a substantial relationship between GBA gene and PH. Mutations in the GBA gene play an important role in the pathogenesis of PH. In our study, we analyzed 11 mutations in the GBA gene in 71 patients with Parkinson's disease, 33 young and 38 idiopathic, and 116 healthy controls. As a result of the analysis, 11 (15.5%) patients and 3 (2.6%) controls were mutated. In 10 patients and 3 controls, R496H mutation was detected and only 1 patient had L444P mutation. Leukocyte GBA expression levels were determined from mutation-detected patients and healthy controls, and patients were significantly lower than controls. Leukocyte glucocerebrosidase enzyme levels were normal in the mutation-detected patients. As a result, GBA gene mutations in Parkinson's patients were significantly higher than the control ( $p=0,001$ ). Leukocyte GBA expression was significantly lower in patients with respect to the control ( $p=0,04$ ). However, leukocyte glucocerebrosidase enzyme levels were normal in patients. This is the first study in our country to explain the

association between Parkinson's disease and the GBA gene. Studies related to the relationship between GBA gene and Parkinson's disease continue to be made. It is very important to study this relationship in terms of clarification, GBA's role in the pathogenesis of PH, and the identification of new target molecules for them. The idea that Parkinson's disease can be treated through these mechanisms in the future leads researchers to do more research. The investigation of the GBA gene mutation carrier in patients with Parkinson's disease is extremely important in support of all these studies.

Keywords: Parkinson's disease, GBA, mutation, expression, glucocerebrosidase, enzyme levels

## GİRİŞ

Parkinson hastalığı (PH) Alzheimer hastalığından sonra ikinci en sık nörodejeneratif hastalık olup görülme sıklığı 65 yaş üstü popülasyonda %1, 85 yaş üstünde ise yaklaşık %5'tir (1). PH tanısı alan olguların yaklaşık %4'ü 50 yaş altındaki genç bireylerdir (2). PH kronik, yavaş seyirli progresif bir hastalıktır (1).

Hastalığın kardinal bulguları; **istirahat tremoru**, **bradikinezi** (hareketlerde yavaşlama), **rijidite** (kas tonusunda artış), ve **yürüyüş bozukluğudur** (1). Bunun yanı sıra hastalarda otonomik disfonksiyon, kognitif bozukluk, depresyon, olfaktör ve diğer duysal defisitler ve uyku bozuklukları gibi non-motor bulgular da görülebilmektedir (3). Bu non-motor semptomlar motor semptomlardan yaklaşık 10 yıl önce başlayabilmektedir ve koku duysusunda bozulma, konstipasyon, depresyon, artmış gündüz uyuklamaları ve REM (Rapid Eye Movement) uykusu bozukluğu gibi bulgular hastalığın prodromal fazını oluşturmaktadır. Prodromal bulgular daha çok erken başlangıçlı parkinsonda görülmekte ve yaşam kalitesini düşürmektedir (4).

Parkinson hastalığının motor bulguları substantia nigra (SN) pars kompakta'da yer alan dopaminerjik nöronların kaybına bağlı ortaya çıkmaktadır. Bu durum hareketlerin başlatılmasından ve idamesinden sorumlu olan bazal gangliyonların disfonksiyonuna yol açmaktadır (5). Substantia nigra'daki dopaminerjik nöronların kaybı intrasitoplazmik, proteinden zengin inklüzyonlar olan Lewy cisimciklerinin birikmesine neden olmaktadır. Klasik Lewy cisimcikleri sferik, eozinofilik yapıdadır ve  $\alpha$ -sinüklein ile koyu boyanırlar. Parkinson hastalarının otopsilerinde kortikal nöronlarda  $\alpha$ -sinüklein pozitif birikimler görülmüş olup Lewy nörit olarak adlandırılmıştır. Bu nöronlar daha diffüz veya granüler perikaryal boyanma paterni göstermektedir. Dopamin eksikliğine bağlı motor fonksiyonlardaki bu bozulma dopaminerjik (L-DOPA; L-3,4-dihidroksifenilalanin) replasman tedavisine yanıt vermektedir (1).

Cinsiyete göre Parkinson hastalığı görülme sıklığı erkek/kadın:3/2'dir. Parkinson hastalığı riskini artıran çevresel faktörler; pestisit maruziyeti, beta bloker kullanımı, tarımla uğraşmak, kuyu suyu tüketimidir. Hastalık riskini azaltan çevresel faktörler ise; tütün ve alkol kullanımı, kahve tüketimi, NSAİİ kullanımı, kalsiyum

(Ca) kanal blokörü kullanımıdır (4, 6). Parkinson hastalığının genetik nedenleri oldukça heterojen olmakla birlikte son zamanlarda yapılan çalışmalarda GBA (glukoserebrozidaz) ve Parkinson hastalığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (7-10). GBA gen mutasyonları Parkinson hastalığının bilinen en sık genetik nedenidir ve PH tanısı alan olguların %5-10 kadarında görülmektedir (4, 11).

GBA geni 1. Kromozomun 1q21 bölgesinde bulunmaktadır. 11 koldayıcı ekson ve 10 introndan oluşmakta ve lizozomal bir enzim olan Glukoserebrozidazı (GCCase) kodlamaktadır (3). GCCase, glukozilseramidi (GlcCer) seramid ve glukoz katalizler (1). GCCase, lizozomal membran reseptör proteini olan lysosomal-associated membrane protein2A (LAMP2A)'ya bağlanarak işlev görür (3).

GBA genindeki homozigot mutasyonlar GBA enzim aktivitesinde düşüklük ve buna bağlı klinik bulgularla giden otozomal resesif (OR) geçişli lizozomal depo hastalığı olan Gaucher hastalığına neden olmaktadır. GBA enzim eksikliğine bağlı makrofajlarda glukozilseramid birikmekte ve 'Gaucher hücreleri' adını almaktadır. Gaucher hücreleri karaciğer (KC), dalak ve kemik iliğinde birikmekte ve hepatosplenomegali, anemi ve kemik anomalilerine sebep olmaktadır (3).

Litertüre baktığımızda Gaucher hastalığı tanısı olan GBA geni mutasyon taşıyıcıları veya Gaucher hastalığı tanısı olmadan sadece GBA heterozigot veya homozigot mutasyon taşıyıcılarında Parkinson hastalığı görülme oranları yüksek bulunmuştur (7-10).

GBA mutasyon taşıyıcılarında artmış Parkinson hastalığı riskinin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Klinik ve patolojik bulgular değerlendirildiğinde idiyopatik Parkinson hastalığında olduğu gibi GBA taşıyıcısı olan Parkinson hastalarında da  $\alpha$ -sinüklein birikimi, mitokondrial hasar, otofajik disfonksiyon, inflamasyon, oksidatif ve endoplazmik retikulum (ER) stresinin hastalık gelişiminde ve progresyonunda rol oynayabileceği düşünülmektedir (11).

GBA ilişkili Parkinson hastalığı hem OR hem de otozomal dominant (OD) geçiş paterni gösterebilir (11). OR geçişli hastalığa genellikle GBA genindeki fonksiyon kaybı (*loss-of-function*) mutasyonları neden olmaktadır.

OD geçişli hastalığa ise genellikle GBA genindeki fonksiyon kazanımı (*gain-of-function*) mutasyonları neden olmaktadır. *GBA* ilişkili Parkinson hastalarının çoğu heterozigot *GBA* mutasyonu taşıtmaktadır. *GBA* heterozigot mutasyonu glukoserebrozidaz enziminin yanlış katlanmasına neden olmaktadır. Yanlış katlanmış glukoserebrozidaz enzimi  $\alpha$ -sinüklein ile direk etkileşime girmekte ve  $\alpha$ -sinüklein birikimine neden olmaktadır (11).

Sonuç olarak; bu araştırma ile genç yaş Parkinson hastalarında, idiyopatik Parkinson hastalarına ve sağlıklı kontrol grubuna göre saptanacak olan GBA geni mutasyonları, genç yaş Parkinson hastalığı etiyolojisinde *GBA* mutasyon taşıyıcılığının ölkemizdeki sıklığı hakkında fikir verecektir ve çok merkezli çalışmaların önünü açacaktır. Mutasyon saptanan hastalarda lökosit GBA gen ekspresyonunun ve periferik kandan glukoserebrozidaz enzim aktivitesinin araştırılması genç yaş Parkinson düşünölen hastaların tanısında faydalı olacaktır. Ayrıca *GBA* mutasyonlarının saptanması hastalara genetik danışma vermek, prognozu hakkında fikir edinmek ve ailede Parkinson hastalığı açısından etkilenme olasılığı olan bireylerin araştırılmasına olanak sağlamak açısından önemlidir. Aynı zamanda GBA genindeki homozigot mutasyonlar metabolik bir hastalık (lizozomal depo hastalığı) olan Gaucher hastalığına da neden olduğundan homozigot mutasyon tespit edilen hastalar Gaucher hastalığı açısından değerlendirilmiş olacak, heterozigot mutasyon taşıyan hastalara akraba evliliği sonucu veya *GBA* heterozigot mutasyon taşıyıcısı bir bireyle evlenmesi sonucunda Gaucher hastası ocuk sahibi olma riski hakkında genetik danışma verilmesine olanak sağlayacaktır.

Bu proje kapsamında PAÜ Nöroloji bölümü tarafından tüm tetkikleri yapılarak genç ve idiyopatik Parkinson hastalığı tanısı almış hastalarda GBA genindeki hedef mutasyonların araştırılması ve mutasyon saptanan olguların GBA gen ekspresyonlarına ve glukoserebrozidaz enzim aktivitelerine bakılması amaçlanmıştır. Bu araştırma, *GBA* ilişkili Parkinson ile ilgili Türkiye’de yapılan ilk çalışma olup, Parkinson hastalığı’nın genetik etiyolojisi hakkında yapılmış olan diğer çalışmalara katkı sağlayacaktır.

## GENEL BİLGİLER

### PARKİNSON HASTALIĞI

#### Tanım ve Tarihçe

Parkinson Hastalığı (PH) sık görülen kompleks bir nörolojik hastalıktır. Tanım olarak; substantia nigra (SN) pars kompaktada bulunan dopaminerjik nöronların erken ölümüyle karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır (4). Parkinson klinik olarak ilk kez 1817 yılında James Parkinson tarafından tanımlanmıştır. 19. Yüzyılın sonlarına doğru Charcot tarafından Parkinson Hastalığı olarak isimlendirilmiştir (12). Hastalığın ilk tanımlanmasının üzerinden 100 yıldan fazla zaman geçtikten sonra (1919) Parkinson Hastalığı'nın substantia nigradaki hücrelerin kaybına bağlı olduğu keşfedilmiştir. İlk kez 1957 yılında İsveç bilim adamı Carlsson ve onun asistanları tarafından bir nörotransmitter sayılan dopamin keşfedilmiştir (13). 1960 yılında Ehringer ve Hornykiewicz tarafından Parkinson hastalarının striatumlarında dopamin konsantrasyonunun düşük olduğu bulunmuştur. Sonraki yıl Parkinson hastalarının tedavilerinde ilk levodopa denemeleri yapılmıştır (14). Tüm bu gelişmelerin sonucunda 2000 yılında Carlsson ve ark. sağlık dalında Nobel Ödülü kazanmıştır (12).

Parkinson hastalığı Alzheimer hastalığından sonra ikinci en sık nörodejeneratif hastalık olup görülme sıklığı 65 yaş üstü popülasyonda %1, 85 yaş üstünde ise yaklaşık %5'tir (1). Parkinson hastalığı tanısı alan olguların yaklaşık %4'ü 50 yaş altındaki genç bireylerdir (2). PH kronik, yavaş seyirli progresif bir hastalıktır. Genelde tanı anından ölüme kadar geçen süre ortalama 15 yıl olmakla birlikte iki dekad veya daha fazla yaşayan hastalar olabilmektedir (5).

Cinsiyete göre Parkinson hastalığı görülme sıklığı erkek/kadın:3/2'dir (4). Bu durumun östrojen gibi kadın cinsiyet hormonlarının nöronal hücre ölümüne karşı koruyucu olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Hayvan çalışmaları östrojen hormonunun muhtemelen antioksidan özellikleri sayesinde PH'na karşı koruyucu olduğunu göstermiştir (15).

Hastalık başlangıç yaşına göre sınıflandığında; 21 yaş ve öncesinde başlamışsa 'juvenil PH', 21-50 yaş aralığında başlamışsa '**erken başlangıçlı PH**' ve genellikle 60 yaşından sonra başlamışsa '**ileri yaş başlangıçlı PH**' olarak isimlendirilmektedir (6, 16).

### **Klinik Bulgular ve Tanı**

PH'nın TRAP şeklinde kısaltılan dört kardinal bulgusu bulunmaktadır. TRAP:*Tremor, Rijidite, Akinezi* (veya bradikinezi) ve *Postural instabilite* (12). Hastalığın tanısı; destekleyici veya dışlayıcı kriterler eşliğinde klinik olarak tanımlanmış bradikinezi ve buna eşlik eden en az bir kardinal motor bulgu (rijidite veya istirahat tremoru) varlığı ile konmaktadır (17). Postural instabilite PH'nın kardinal bulgusu olmakla birlikte ileri evrelerde ortaya çıktığından MDS (Uluslararası Parkinson ve Hareket Bozuklukları Topluluğu) PH tanı kriterlerinde yer almamaktadır (18). Hastalığın erken evrelerinde bulunması halinde Parkinson varyantları ya da sekonder parkinsonizm gibi farklı tanımlar düşünülmelidir (19).

### **MDS PH tanı kriterleri: (17)**

#### **1.Adım:** Parkinsonizm tanısı

- Bradikinezi varlığı
- Rijidite ve/veya istirahat tremorundan en az birinin varlığı

#### **2. Adım:** Parkinsonizmin nedeninin PH olduğunun belirlenmesi

Klinik olarak Parkinson hastalığı tanısı, aşağıdaki üç parametrenin tümünü gerektirir:

- Kesin dışlama kriterlerinin yokluğu. Bu kriterler; klinik veya görüntüleme ile kanıtlanmış atipik parkinsonizm, ilaçla indüklenmiş parkinsonizm veya esansiyel tremor gibi parkinsonizmin alternatif tanımlarının varlığı,
- İki veya daha fazla destekleyici kriter varlığı. Bunlar; L-DOPA yanıtının varlığı, klasik istirahat tremorunun varlığı, L-DOPA ile indüklenen

diskinezinin varlığı, Metaiodobenzilguanidin (MIBG) sintigrafisinde koku kaybı ya da kardiyak sempatik denervasyonun varlığı,

- Kırmızı bayrak yokluğu. Bu, PH'da alışılmadık fakat kesin dışlama kriteri olmayan özelliklere, örneğin tekerlekli sandalye kullanımını gerektiren yürüyüş bozukluğunun hızla ilerlemesi veya başlangıcının ardından 5 yıl içinde ciddi otonomik disfonksiyon bulunması anlamına gelmektedir.

**Birleşik Kırallık Parkinson Hastalığı Derneği Beyin Bankası (*UK Parkinsons Disease Society Brain Bank*) tanı kriterleri: (4).**

#### **1.Adım: Parkinsonian sendrom tanısı**

- Bradikinezi
- Musküler rijidite
- 4-6 Hertz (Hz) tremor
- Postural instabilite (görsel, vestibular , serebellar veya proprioseptif bozukluğa bağlı olmayan)

#### **2.Adım: PH için dışlama kriterleri**

Bir veya daha fazlasının varlığında farklı bir tanı düşünülmelidir

- Parkinsonian bulgularla seyreden geçirilmiş tekrarlayıcı inme atakları
- Geçirilmiş tekrarlayıcı kafa travması öyküsü
- Geçirilmiş ensefalit öyküsü
- Semptomların başlangıcında nöroleptik tedavi almış olmak
- 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MTHP) maruziyeti
- Yüksek doz L-DOPA'ya yanıtızsızlık
- Uzun süreli remisyon
- Bulguları 3 yılı aşkın süredir tek taraflı (unilateral) devam etmesi
- Erken dönemde başlayan otonomik bozukluk



- Erken dönemde başlayan hafıza, dil ve alışkanlık problemlerinin eşlik ettiği demans
- Okülogirik krizler
- Supranükleer bakış paralizisi
- Babinski bulgusunun varlığı
- Serebellar bulguların varlığı
- Beyin görüntülemeye bir serebral tümör veya hidrosefali varlığı

### **3.Adım: PH için destekleyici kriterler:**

Kesin PH tanısı için üç veya daha fazlasının varlığı gereklidir

- Tek taraflı (unilateral) başlangıç
- İstirahat tremorunun varlığı
- Progresif (ilerleyici) özellik
- Çoğunlukla hastalığın başladığı tarafı etkileyen kalıcı asimetrinin varlığı
- L-DOPA yanıtı varlığı (%70-100)
- Ciddi L-DOPA ile indüklenen kore varlığı
- Beş yıl veya daha fazla L-DOPA yanıtı
- On yıllık veya daha fazla süren klinik seyir

Hastalığın başlangıcı çoğunlukla tek taraflıdır (unilateraldir) ve asimetri hastalık boyunca devam eder (17).

PH'nın kardinal bulguları aşağıda belirtildiği şekilde açıklanmıştır.

#### ***Bradikinezi***

Bradikinezi, hareketlerde yavaşlama ve hareketin devam ettirilmesi sırasında amplitüdünde veya hızında azalma (veya progresif duraksama/donma) anlamına gelmektedir (18). Hareketin amplitüdünde azalma olması durumu akinezi/hipokinezi olarak tanımlanmaktadır (20). Bradikinezi varlığı parmak vurma, el hareketleri, pronasyon-supinasyon hareketi ve ayak parmak vurma muayeneleri ile tespit edilebilir. Bradikinezi, hareketlerin planlanması, başlatılması, sürdürülmesi ve aynı zamanda ardışık ve eş zamanlı işlerin yapılması ile ilgili beyin bölümü olan bazal

gangliyonların hasarının bir göstergesidir (21). Bradikinezinin diğer bulguları; spontan hareketlerin kaybı, yutma güçlüğüne bağlı salya akması, monotonik ve hipotonik dizartri, yüz mimiklerinin azalması (hipomimi), göz kırpması ve yürürken kolları sallama hareketinin azalmasıdır (12).

### ***Tremor***

İstirahat tremoru PH'nın en sık ve en kolay tanınan semptomudur. Başlangıcı genellikle unilateral olmaktadır ve şiddeti 4-6 Hz aralığındadır. Çoğunlukla istirahat halindeki ekstremitelerin distal kesimlerini etkilemektedir (12). Genellikle o ekstremiteler ile bir harekete başlama sırasında ve uykuda baskılanmaktadır (18). Eldeki tremor genellikle supinasyon-pronasyon ('*pill-rolling*') hareketi şeklindedir. PH'da istirahat tremoru aynı zamanda dudaklarda, yanaklarda, çenede veya bacaklarda da gözlenebilmektedir. Esansiyel tremorun aksine boyun/kafa veya seste nadirdir (12). Parkinson hastalığı ve esansiyel tremorun (ET) ayırıcı tanısı Tablo 1'de özetlenmiştir.

**Tablo 1:** PH ve esansiyel tremor ayırıcı tanısı (12).

Özellik	PH	Esansiyel tremor
<b>Başlangıç yaşı</b>	55-75	10-80
<b>Aile öyküsü</b>	+/-	++
<b>Tremor frekansı (Hz)</b>	4-6	5-10
<b>Tremor özelliği</b>	Supinasyon-pronasyon	Fleksiyon-ekstansiyon
<b>Etkileyen faktörler</b>		
<b>İstirahat</b>	Arttırır	Azaltır
<b>Hareket</b>	Azaltır	Arttırır
<b>Mental konsantrasyon</b>	Azaltır	Arttırır
<b>Yazı yazma</b>	Azaltır(mikrografi)	Arttırır(tremulus)
<b>Yürüyüş</b>	Arttırır	Azaltır
<b>Alkol</b>	-	Azaltır
<b>Postural tremor</b>	're-emergent'	Gecikmesiz
<b>Kinetik tremor</b>	+/-	+
<b>Ekstremitte tremoru</b>	Asimetrik	Simetrik
<b>Diğer tutulum bölgeleri</b>	Yüz, çene, dudaklar, yanaklar	Kafa, ses
<b>Nörogörüntüleme- dopaminerjik sistem</b>	Belirgin dopaminerjik defisit mevcut	Hafif dopaminerjik defisit mevcut
<b>Orta-beyin tomografisi Nöropatoloji</b>	Belirgin hiper-ekojenite Nigrostriatal dejenerasyon, Lewy cisimleri	Hafif hiper-ekojenite Hafif serebellar dejenerasyon, SN, beyin sapı ve serebellumda Lewy cisimleri
<b>Tedavi</b>	Antikolinerjikler, amantadin, dopaminerjik ilaçlar, DBS	Alkol, beta-blokerler, pirimidon, topiramat, gabapentin, botulinum toksin, DBS

Son zamanlarda yapılan genetik ve epidemiyolojik çalışmalar esansiyel tremor ve PH arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Esansiyel tremor tanılı bazı hastalarda zaman içerisinde PH görülebilmektedir (22). ET ve PH'nın bazı benzer özellikleri bulunmasından dolayı ayırıcı tanısının yapılması zor

olabilmektedir (23). Tablo 1’de PH ve ET ayırıcı tanısına yardımcı olabilecek özellikler listelenmiştir (12).

### ***Rijidite***

Rijidite, hasta rahat pozisyondayken muayene eden kişi tarafından büyük eklemlerin pasif hareketleri (fleksiyon, ekstansiyon veya rotasyon) sırasında artmış direnç anlamına gelmektedir. Bu duruma ek olarak, eklemin pasif hareketi sırasında hissedilen kademeli hareket ‘dişli çark fenomeni’ olarak bilinir ve tremorun bir yansıması olarak kabul edilmektedir (18).

### ***Postural İnstabilite***

Postural reflekslerin kaybına bağlı gelişen postural instabilite genellikle hastalığın ileri evrelerinde görülmektedir ve diğer klinik bulgular başladıktan sonra ortaya çıkmaktadır (24). Postural instabilite muayenesi hasta ayakta iken omuzlarından hızlıca ileriye veya geriye çekilerek (çekme testi) yapılır (12).

### **PH Alt Tipleri**

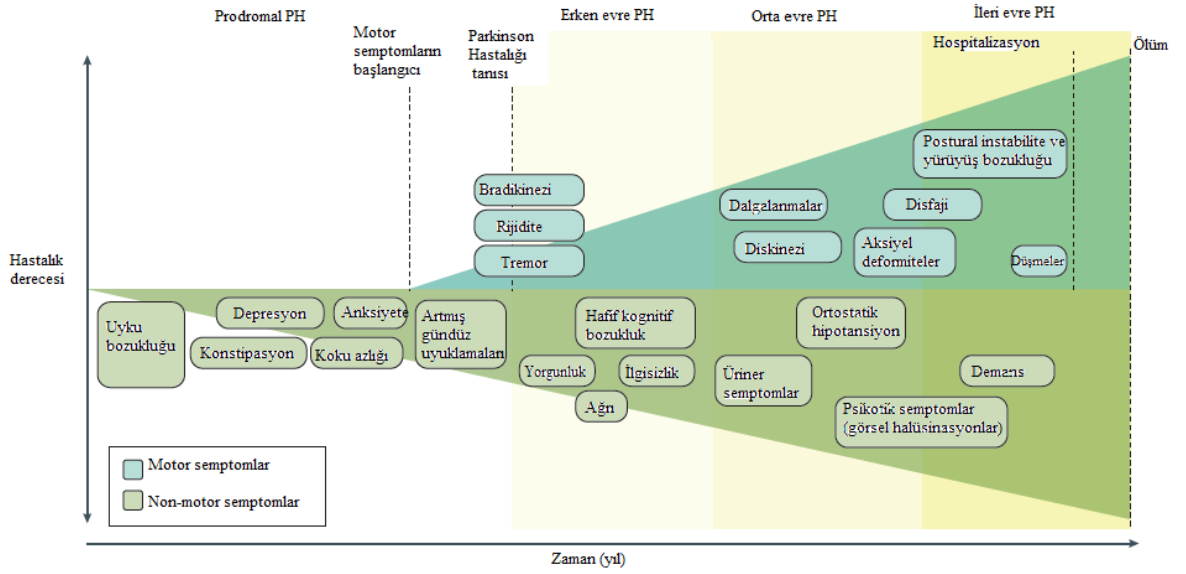
Parkinson hastalığının klinik bulguları hastadan hastaya heterojen dağılım göstermektedir. Bu durum hastalığın alt tiplerinin belirlenmesini gerektirmektedir (25). PH’nın subtiplendirilmesi hakkında kesin bir görüş birliği sağlanamamakla birlikte yapılan çalışmalar iki major alt tip üzerinde durmaktadır: **1)tremor-dominant PH, 2)akinetik-rijid PH** (4, 26). Hastalığın prognozu subtiplere göre farklılık göstermektedir. Tremor-dominant PH, non-tremor dominant tiplere göre sıklıkla daha yavaş progresif seyretmekte ve fonksiyonel disabilite daha az görülmektedir (4, 25, 26).

## Non-Motor Bulgular

PH'da motor bulguların yanı sıra olfaktor disfonksiyon (koku azlığı), bilişsel bozukluk, uyku bozuklukları, psikiyatrik problemler (anksiyete, depresyon), ağrı, yorgunluk, konstipasyon gibi non-motor bulgular da görülebilmektedir (4, 6, 27). Bu semptomlar, PH'nın erken evrelerinde görülmekte ve yaşam kalitesini düşürmektedir (28). Non-motor semptomlar aynı zamanda hastalığın motor bulguları başlamadan yıllar önce de ortaya çıkabilmektedir (4). PH'da erken ve geç dönemde görülen motor ve non-motor bulgular Tablo 2 ve Şekil 1'de kapsamlı bir şekilde gösterilmiştir.

**Tablo 2:** PH'nın erken ve geç dönem motor ve non-motor belirtileri (6, 27, 29, 30)

Erken motor bulgular	Erken non-motor bulgular	Geç motor bulgular	Geç non-motor bulgular
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Yatakta dönmede zorluk</li><li>➤ Donuk omuzlar</li><li>➤ Ekstremitelerde sertlik, uyuşma veya ağrı</li><li>➤ Mikrografi</li><li>➤ Bradikinezi</li><li>➤ Elde, çenede veya ayakta tremor</li><li>➤ Bradimimi</li><li>➤ Ayak sürüyerek yürüme, kol sallamada azalma</li><li>➤ Seste incelme</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Konstipasyon (%30)</li><li>➤ Uyku bozuklukları (%50)</li><li>➤ Depresyon</li><li>➤ Olfaktör disfonksiyon (koku alma duyusunda azalma)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Motor dalgalanmalar</li><li>➤ Diskinezi (dopaminerjik tedavi komplikasyonu)</li><li>➤ Yürüyüş sırasında donmalar</li><li>➤ Düşmeler</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Disfaji</li><li>➤ Nöropsikiyatrik semptomlar (halüsinasyon, uyku bozuklukları, demans)</li><li>➤ Otonom bozukluklar (terleme, ortostatik hipotansiyon, salya akması, üriner disfonksiyon)</li><li>➤ Seboraik dermatit</li></ul>



Şekil 1: PH'nın klinik progresyonu (17).

## PH Değerlendirmede Kullanılan Ölçekler

### *Birleştirilmiş Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği (UPDRS=The Unified Parkinson's Disease Rating Scale)*

Hastalığın motor ve non-motor bulgularını değerlendirip hastalığın evrelemesi hakkında fikir veren bazı ölçekler kullanılmaktadır. UPDRS (*The Unified Parkinson's Disease Rating Scale*-Birleştirilmiş Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği) hastadaki motor ve non-motor etkilenmeyi en iyi değerlendiren ölçek olarak kabul edilmektedir (12, 31). Ölçek dört kısımdan oluşmaktadır (Ek 5). I. kısımda non-motor tutulumu değerlendiren 13 soru; II. kısımda günlük motor aktiviteleri değerlendiren 13 soru; III. kısımda motor bulguları değerlendiren 18 soru ve IV. kısımda motor komplikasyonları değerlendiren 6 soru olmak üzere toplam 50 soru bulunmaktadır (32, 33). Her soru için beş cevap seçeneği vardır: 0 = normal, 1 = silik, 2 = hafif, 3 = orta, 4 = ciddi şeklinde puanlanır ve tüm puanlar toplanıp toplam skor elde edilir (32).

### *Hoehn ve Yahr (H&Y) ölçeği*

Parkinson hastalığı progresif bir hastalık olduğundan hastalık şiddetini belirlemek için klinik evreleme yapılmaktadır. Evrelemede Margaret Hoehn ve Melvin Yahr tarafından geliştirilmiş olan Hoehn ve Yahr (H&Y) skalası kullanılmaktadır (34). Ölçeğe göre hastalar, klinik tutulumlarına göre 1 ve 5 arasında değerlendirilmektedirler (Tablo 3).

**Tablo 3:** Orijinal ve modifiye H&Y ölçeği (34).

<b>H&amp;Y ölçeği</b>	<b>Modifiye H&amp;Y ölçeği</b>
<b>1:</b> Tek taraflı tutulum, fonksiyonel kayıp yok veya minimal kayıp	<b>1.0:</b> Tek taraflı tutulum <b>1.5:</b> Tek taraflı ve aksiyel tutulum
<b>2:</b> Denge kaybı olmadan bilateral tutulum	<b>2.0:</b> Denge kaybı olmadan bilateral tutulum <b>2.5:</b> Çekme testinde başarılı, bilateral hastalık
<b>3:</b> Bilateral hastalık. Postüral reflekslerde hafif veya orta derecede bozukluk, fiziksel olarak bağımsız	<b>3.0:</b> Hafif veya orta bilateral hastalık, hafif postural dengesizlik, fiziksel olarak bağımsız
<b>4:</b> Ciddi hastalık evresi. Yürüyebilir veya yardımsız ayakta durabilir	<b>4.0:</b> Ciddi hastalık evresi. Yürüyebilir veya yardımsız ayakta durabilir
<b>5:</b> Tekerlekli sandalyeye veya yatağa bağımlı dönem	<b>5.0:</b> tekerlekli sandalyeye veya yatağa bağımlı dönem

Hastalar genelde PH tanısı aldıklarında Evre 1 klinik düzeyindedirler. Giderek Evre 5'e ilerlerler veya yaşamlarını yitirirler (34).

### *Non-Motor Belirtileri Değerlendirme Ölçeği*

PH'da olfaktör disfonksiyon (koku azlığı), bilişsel bozukluk, uyku bozuklukları, psikiyatrik problemler (anksiyete, depresyon), ağrı, yorgunluk, konstipasyon gibi non-motor bulgular görülebilmektedir (4, 6). Bu belirtilerin sıklığını ve şiddetini belirlemek için non-motor belirtileri değerlendirme ölçeği kullanılmaktadır. Ölçekte toplam 30 madde yer almaktadır (Ek 8). Bu maddelerdeki

sorularla kardiyovasküler (2 madde), uyku düzeni (4 madde), duygu durum ve bilişsel işlevler (6 madde), algı problemleri (3 madde), dikkat ve bellek (3 madde), gastrointestinal sistem (3 madde), üriner sistem (3 madde), cinsel işlevler (2 madde) ve diğer (4 madde) sistemlere yönelik non-motor belirtiler sorgulanmaktadır (35). Ölçekte semptom sıklığı 1-4 arasında ve semptomun şiddeti 0-3 arasında derecelendirilmekte ve sıklık ve şiddet çarpılarak her semptom için bir skor elde edilmektedir (36). Her skor toplanarak toplam skor belirlenmektedir.

***Mini Mental Durum Muayene Testi (MMSE=Mini Mental State Examination)***

Parkinson hastalığının erken evrelerinden itibaren kognitif fonksiyonlar etkilenebilmekte ve hafif kognitif bozukluk görülebilmektedir. Hastalık kliniği ilerledikçe kognitif bozukluk düzeyinde de ilerleme görülebilmektedir (17). Dünya genelinde hastaların kognitif bozukluk düzeyini ölçmeye yarayan bazı ölçekler belirlenmiştir. Mini Mental Durum Muayene Testi (MMSE), kognitif muayene için dünyada en sık kullanılan ölçektir. Yüksek sensitivite (%82) ve spesifiteye (%87) sahip olan testte oryantasyon (10 puan), hafıza (6 puan), konsantrasyon (5 puan), dil (8 puan) ve motor becerilere (1 puan) ait toplam beş bölüm yer almaktadır (37). Toplam 30 puandan oluşan test kısa sürede kolayca uygulanabilmektedir. Toplam skoru değerlendirmede dikkat edilmesi gereken konu ise, deneklerin eğitim düzeyleridir. Teste katılanların eğitim düzeylerine göre ayrı eşik değerler belirlenmiştir. Türk toplumu için iki ayrı eşik değer belirlenmiştir. Buna göre; erişkinler için 5 yıldan az eğitim alanlarda eşik değer %82.7 sensitivite ve %92.3 spesifite ile 18/19 şeklinde ve 5 yıl ve üzeri eğitim alanlarda ise eşik değer %90.9 sensitivite ve %97.0 spesifite ile 22/23 şeklinde belirlenmiştir (38).



### ***Addenbrook Kognitif Muayenesi (ACE-R=Addenbrooke's Cognitive Examination)***

Kognitif bozukluk düzeyini belirlemek için kullanılan ve MMSE'ye göre daha kapsamlı olan bir diğer ölçek ise Addenbrook Kognitif Muayene ölçeğidir (ACE-R). Pek çok çalışma, Parkinson hastalarında kognitif durumu değerlendirmede ACE-R'in MMSE'ye göre daha kapsamlı ve daha kullanışlı olduğunu öne sürmektedir (39). Testte beş ayrı bölüm yer almaktadır (Ek 7). Bu bölümler; dikkat ve oryantasyon (18 puan), bellek (26 puan), sözel akıcılık (14 puan), dil (26 puan), görsel-mekansal işlevlerdir (16 puan). Toplam skor 100 üzerinden değerlendirilmektedir (39). MMSE' de olduğu gibi ACE-R testinde de deneklerin eğitim düzeyleri dikkate alınarak değerlendirme yapılmalıdır. Yapılan çalışmalarda pek çok toplum kendi eşik değerlerini belirlemiştir (40-42).

### **PH Risk Faktörleri ve Nedenleri**

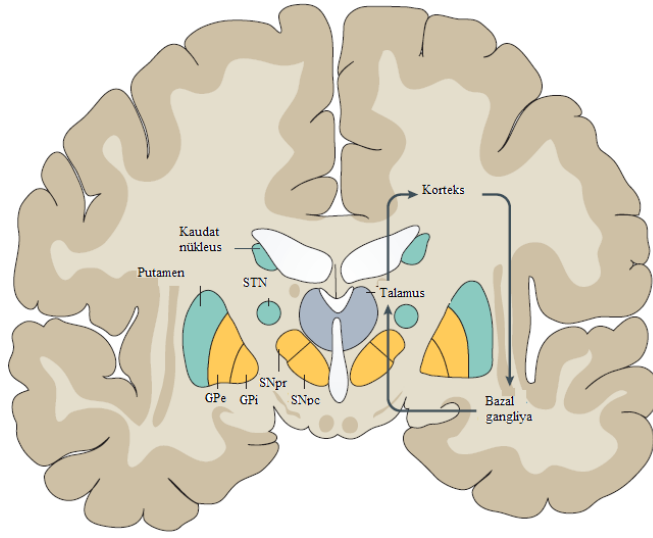
Parkinson hastalığı risk faktörleri, Tablo 4'te özetlenen şekilde modifiye edilemeyen risk faktörleri ve modifiye edilebilir risk faktörleri olarak ikiye ayrılmaktadır (4, 6). Modifiye edilemeyen risk faktörlerinin başında yaş yer alırken, hastalığın yaklaşık %10 kadarına genetik faktörler sebep olmaktadır.

**Tablo 4:** Parkinson Hastalığı risk faktörleri.

Modifiye edilebilir risk faktörleri		Modifiye edilemeyen risk faktörleri
<b>Riski arttıran faktörler</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Endüstriyel maruziyeti (pestisidler, herbisidler)</li><li>• Ağır metaller</li><li>• Obstruktif uyku apnesi</li><li>• Beta bloker kullanımı</li><li>• Kuyu suyu tüketimi</li></ul>	<b>Riski azaltan faktörler</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Sigara kullanımı</li><li>• Kafein</li><li>• Alkol tüketimi</li><li>• Non-steroid anti inflamatuvar ilaç (NSAİ) kullanımı</li><li>• Ca kanal blokörleri</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Yaş</li><li>• Cinsiyet (E/K=1.5/1)</li><li>• Genetik nedenler (%10)</li></ul>

## Bazal Gangliyon Nöroanatomisi

Parkinsonizm, bazal gangliyonların fonksiyonlarındaki anormalliklerden kaynaklanmaktadır. Bazal gangliyonlar dört kısımdan oluşmaktadır. Bu kısımlar; 1. neostriatum (kaudat nukleus ve putamen), 2. globul pallidus (eksternal segment [GPe] ve internal segment [GPi]), 3. subtalamik nukleus (STN), 4. substantia nigra (pars retikulata [SNr] ve pars kompakta [SNc]) olarak isimlendirilmektedir ve Şekil 2’de gösterilmektedir (43).

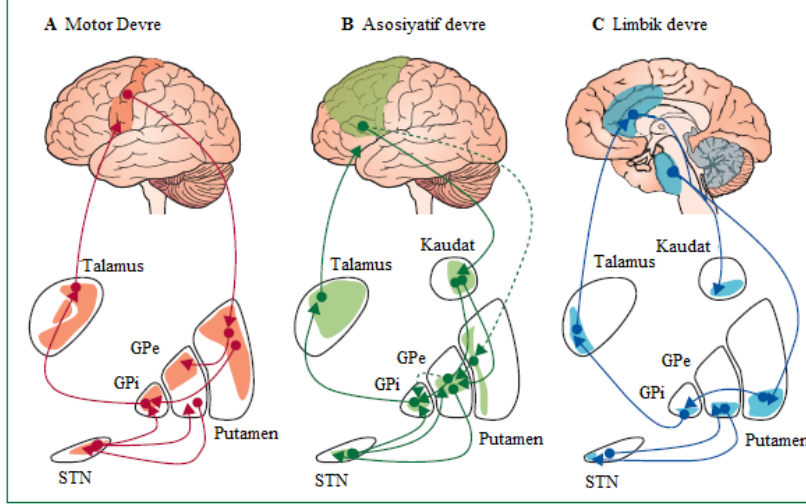


**Şekil 2:** Bazal gangliyon anatomisi

Piramidal sistem, sensörimotor serebral korteksten orijin almakta ve göz hareketleri dışındaki motor aktivitelerden sorumludur. Ekstrapiramidal sistemin bir parçası olan bazal gangliyonlar ise korteksin pek çok bölgesinden (özellikle frontal korteksten) bilgi alarak bu bilgileri işlemekte ve talamusun çeşitli çekirdekleri aracılığıyla tekrar kortekse ulaştırmaktadır (kortiko-bazal ganglia- talamo-kortikal yol). Bu sayede kompleks motor aktivitelerin, göz hareketlerinin, bilişsel ve hafıza ile ilgili işlerin kontrolü sağlanmaktadır (44-46).

Bazal gangliyonlar fonksiyonlarına göre birbirinden bağımsız organize olmuş beş ayrı devreye ayrılırlar. Bunlar; motor, okülomotor, asosiyatif, limbik, orbitofrontal devrelerdir (Şekil 3) (45). Motor devre motor korteks olarak bilinen Broddman’ın 4. ve 6. bölgelerinden, asosiyatif devre asosiyatif bölge olarak bilinen

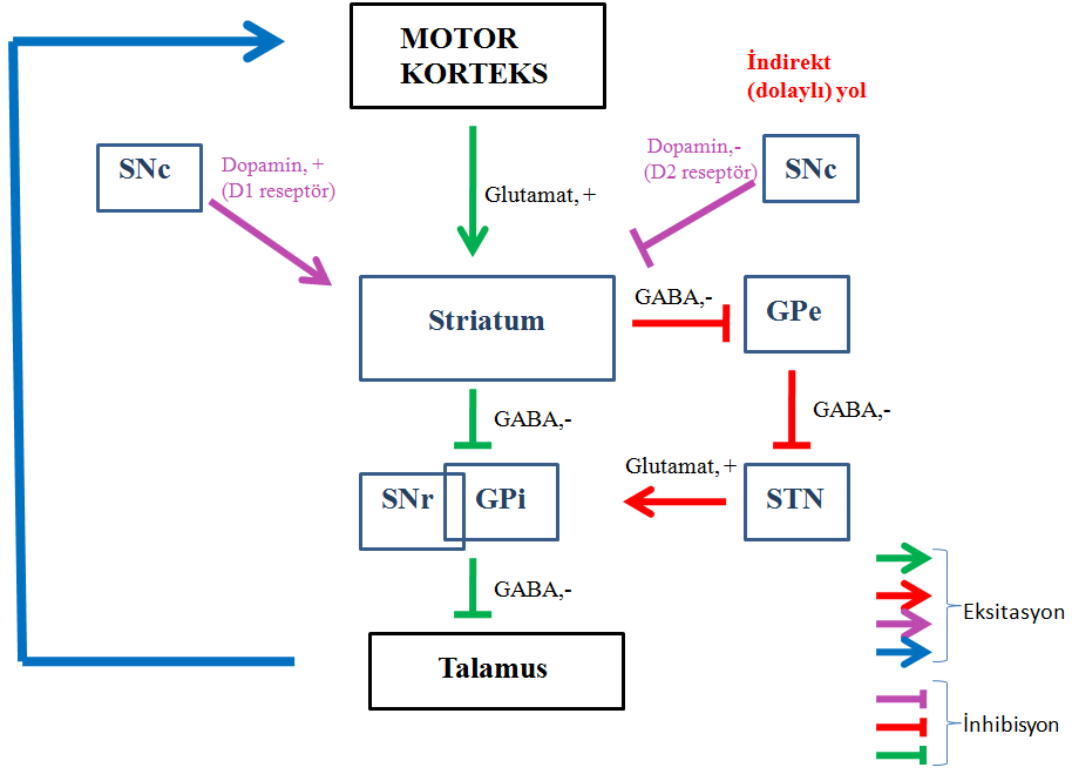
prefrontal korteksten ve limbik devre, limbik bölge olarak bilinen anterior singulat giristan bilgiler taşımaktadır (47). Üzerinde en çok araştırma yapılan ve en iyi bilinen devre motor devredir (Şekil 3).



Şekil 3: Bazal gangliyonların fonksiyonel organizasyonu

Korteksten bazal gangliyonlara gelen glutamerjik afferent sinyallerin bazal gangliyonlara giriş yaptığı yapı striatumdur (kaudat nukleus+putamen). Bazal gangliyonlarda işlenen bilgi, Şekil 4'te gösterildiği şekilde iki farklı yol izleyerek (direkt ve indirekt yol) bazal gangliyonların efferent (çıkış) kapısı olan GPi ve SNr'den geçerek talamus aracılığıyla kortekse iletilmektedir (43, 44, 47, 48).

Monosinaptik olan direkt yolda, korteksten striatuma gelen glutamerjik nöronlar, gabaerjik nöronlarla bazal gangliyonların çıkış kapısı olan SNr ve GPi'dan geçerek talamus üzerinde inhibisyon etkisi yaratırlar. Bu durum, korteksin uyarılabilirliğini artırarak başlatılan hareketi kolaylaştırmaktadır. SNc'dan salınan Dopamin, D1 reseptörleri uyararak direkt yolu başlatmakta ve striatal nöronları aktive etmektedir (43-45, 47).



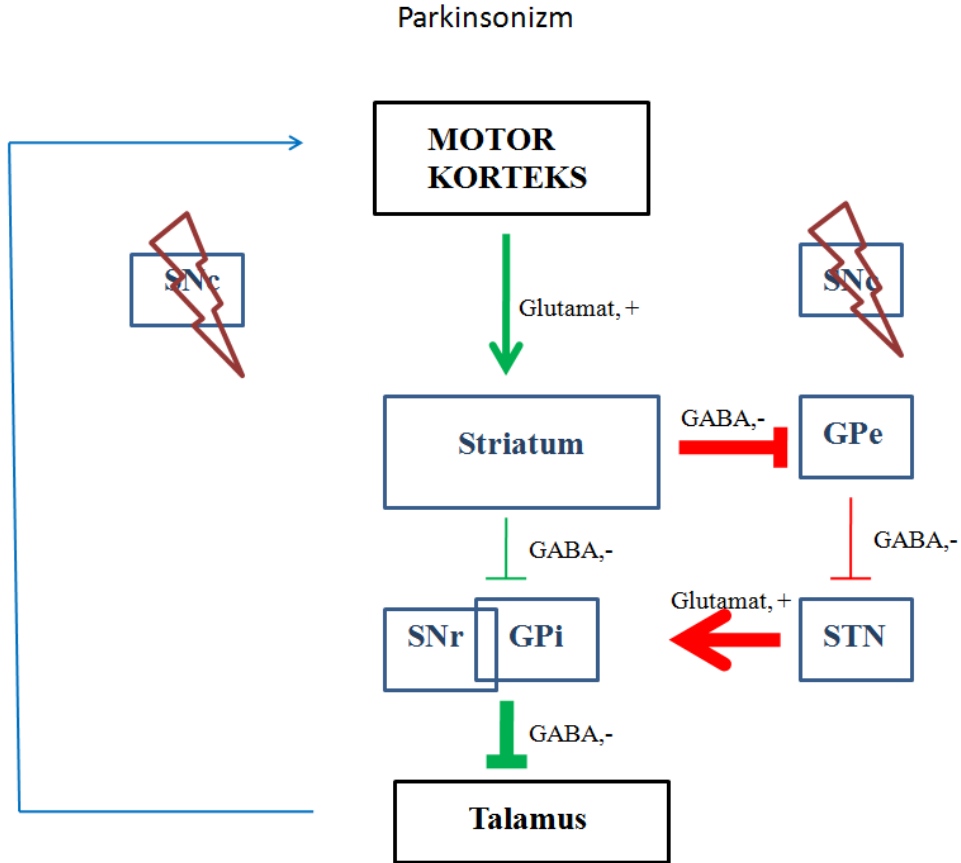
**Şekil 4:** Kortiko-bazal gangliyo-talamo-kortikal yol. Direkt ve indirekt yollar. STN: Subtalamik nukleus, SNc: Substantia nigra pars kompakta, SNr: Substantia nigra pars retikulata, GPi: Globus pallidus interna, GPe: Globus pallidus eksterna, GABA: Gama amino bütirik asit.

SNc'dan salınan Dopamin, D2 reseptörleri inhibe ederek ise indirekt yolu başlatmakta ve striatal nöronları inhibe etmektedir. Trisinaptik olan indirekt yolda, korteksten striatuma gelen glutamerjik nöronlar, GPe ve STN'dan geçerek bazal gangliyonların çıkış kapısı olan SNr ve GPi'ya ulaşmaktadır. İndirekt yolun net etkisi korteksin baskılanmasıdır. Yani Dopamin D1 reseptörler aracılığıyla direkt yolu aktive etmekte, D2 reseptörler aracılığıyla da indirekt yolu baskılamaktadır (43-45, 47, 49).

Korteksin uyarılabilirliği ve hareketin doğru bir şekilde gerçekleştirilebilmesi için direkt ve indirekt yol arasında olması gereken denge Dopamin ile sağlanmaktadır. Substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöronların kaybı sonucu oluşan Parkinson Hastalığı'nda bu denge bozulmakta, direkt yol aktive olamamakta ve Şekil 5'te gösterildiği şekilde indirekt yol hakimiyeti görülmektedir.

Bunun sonucu olarak korteksin uyarılabilirliği azalmakta, başlatılan hareket inhibe olmakta ve parkinsonian belirtiler olan akinezi, hipokinezi veya bradikinezi görülmektedir (47, 50, 51).

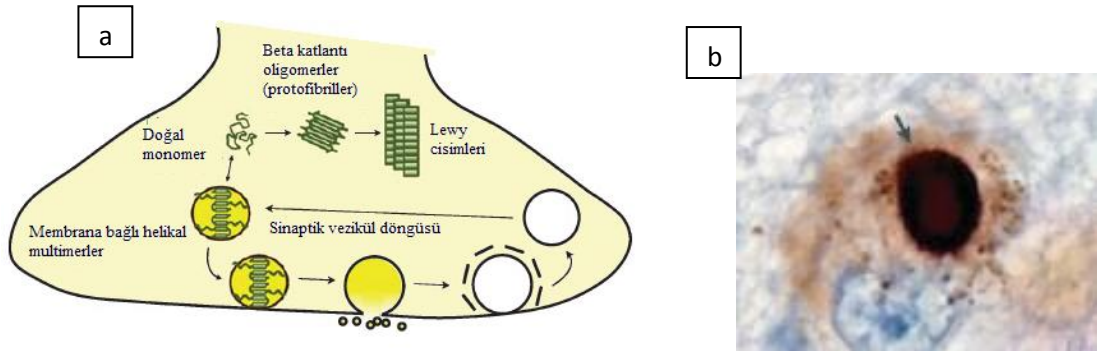
Hastalığın diğer bir kardinal bulgusu olan tremoru açıklamada bu mekanizma yeterli olmamaktadır. Tremorun kesin sebebi belli olmamakla birlikte birkaç farklı hipotez bulunmaktadır (26, 47). Yapılan çalışmalar; tremor baskın PH'da SNC'daki dopaminerjik nöron kaybının non-tremor baskın PH'larına göre daha az olduğunu göstermiştir. Bu durum tremor baskın alt tipte kliniğin daha yavaş seyretmesini açıklamaktadır (26).



**Şekil 5:** Parkinsonizmde Kortiko-bazal gangliyo-talamo-kortikal yolda meydana gelen değişiklikler. SNC'daki dopaminerjik nöronların harabiyetine bağlı direkt yol uyarılamamakta ve indirekt yol hakimiyeti artmaktadır. Bunun sonucunda motor korteksin uyarılması azalmaktadır.

## Parkinson Hastalığı Patofizyolojisi

SNC'daki dopaminerjik nöron kaybının yanı sıra tüm Parkinson hastalarında bulunan bir diğer patoloji, nöronlarda intraselüler  $\alpha$ -sinüklein birikimidir (17). Bu birikimler Lewy cisimciği olarak adlandırılmaktadır. 140 aminoasitlik bir protein olan  $\alpha$ -sinüklein beyinde eksprese olmaktadır (52). Presinaptik lokalizasyonundan dolayı sinaptik vezikül dinamiğinde görevli olduğu düşünülmektedir (52-54). Bunun yanı sıra nükleus ve mitokondride de bulunduğu düşünülmekte ve şaperon görevi görerek mitokondriyal fonksiyonlarda da görevli olabileceği düşünülmektedir (17). Normalde monomer yapıda olan  $\alpha$ -sinüklein oligomer yapıya döndüğünde protofibriller oluşturur ve bu protofibrillerin agregasyonu Lewy cisimciklerini oluşturur (Şekil 6). Bu yapısal değişikliğin çeşitli sebepleri olabilir. Örneğin; proteinin fazla üretilmesi, ilgili gende bir mutasyon sonucu hatalı protein oluşumu veya yanlış katlanmış proteini degrade eden moleküler yollarda bozukluk sonucu oligomerizasyon meydana gelebilmektedir (17, 52).



**Şekil 6: a;**  $\alpha$ -sinüklein fizyolojik ve patolojik konformasyonu. Sitolitik  $\alpha$ -sinüklein monomerik yapıdadır. Sinaptik veziküle bağlanır ve fonksiyonel hale gelir. Yanlış katlanma sonucu oligomer halini alıp Lewy cisimciklerine dönüşmektedir (52). **b;** İntranöronal Lewy cisimciği (17).

**$\alpha$ -sinüklein degradasyonu:**  $\alpha$ -sinüklein'in intrasellüler homeostazı iki sistemle sağlanır; ubiquitin-proteazom sistemi ve lizozomal otofaji sistemi (LOS) (17). Bu iki sistem sayesinde nöron içindeki oligomerik yapılar temizlenir. Bu

sistemlerde bir bozulma nöron içinde  $\alpha$ -sinüklein birikimine neden olmaktadır.  $\alpha$ -sinüklein oligomerleri ubikutin-proteazom sistemini ve lizozomal otofaji sistemini inhibe etmektedir (55).  $\alpha$ -sinüklein birikiminin en büyük nedenlerinden biri yaşlanmadır. Parkinson hastalarında substantia nigra, özellikle  $\alpha$ -sinüklein birikimi olan nöronlarda, lizozomal enzim düzeylerinin düşük olduğu belirlenmiştir (56). Lizozomal bir enzim olan glukoserebrozidazı kodlayan GBA genindeki mutasyonlar lizozomal degradasyon sistemine zarar vererek PH'na neden olduğu düşünülmektedir (11).

**$\alpha$ -sinüklein'in prion benzeri yayılımı:** Yapılan çalışmaların sonuçları,  $\alpha$ -sinüklein agregatlarının intra-aksonal yol ile diğer beyin bölgelerine yayıldığını göstermektedir. Hücre kültürü çalışmaları LOS'taki bozulmanın  $\alpha$ -sinükleinin eksozomlar aracılığıyla ekstrasellüler alana salınmasına sebep olduğunu, endositoz ile de diğer hücreler tarafından hücre içine alındığını göstermiştir (57). Bu olayların uzun yıllar içinde olduğu düşünülmektedir. Hastalığın motor belirtileri başlamadan yıllar önce (prodromal dönem) koku azlığı ve konstipasyon gibi non-motor belirtilerin görülmesi  $\alpha$ -sinüklein agregasyonunun ilk olarak olfaktör bulbus ve enterik nöronlarda başladığını düşündürmektedir (17).

**Mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres:** PH patogenezinde rol alan bir diğer mekanizma mitokondriyal disfonksiyondur (58). Mitokondrideki elektron transport zinciri (ETZ)'nin en önemli komponenti kompleks I'dir. Post-mortem çalışmalarda Parkinson hastalarının frontal korteks ve substantia nigra gibi beyin bölgelerinde kompleks I aktivitesinin azaldığı ve oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (59). Normalde mitokondride düşük seviyelerde bulunan  $\alpha$ -sinükleinin mitokondride akümüasyonu, mitokondriyal kompleks I hasarına ve oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır. Mitokondriyal disfonksiyon ve artan oksidatif stres lizozomlarda azalmaya ve lizozomal otofaji sisteminde bozulmaya neden olmaktadır (17).  $\alpha$ -sinüklein dışında bazı genler de (PARK6, PARK7, PARK8, PARK 13) farklı mekanizmalarla mitokondriyal disfonksiyona neden olmaktadır (59).

**Nöroinflamasyon:** Santral sinir sisteminde (SSS) inflamatuvar yanıtın sorumlu en önemli hücre tipi mikroglia'dır (60). Parkinson hastalarında yapılan post-mortem çalışmalarda SNpc'da reaktif mikrogliaların varlığının gösterilmesi, PH

patogenezinde nöroinflamasyonun rol aldığını düşündürmüştür (61). Daha sonraki çalışmalarda Parkinson hastalarının orta beyin kısımlarında tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ve interferon-  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) gibi proinflamatuvar belirteçlerin artması bu düşünceyi desteklemiştir (60). Nöroinflamatuvar yollar PH tedavisi için bazı hedefler oluşturmakta ve buna yönelik çalışmalar yapılmaktadır (62).

## **PARKINSON HASTALIĞININ GENETİĞİ**

10-15 yıl öncesine kadar Parkinson hastalığının etiolojisinin sporadik olduğu düşünülmekteydi. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda, hastalığın çeşitli çevresel ve genetik faktörlere bağlı multifaktöriyel bir hastalık olduğu belirlenmiştir (63). Genom boyu ilişkilendirme ve bağlantı analizleri sayesinde son zamanlarda PH ile ilgili 18 lokus tanımlanmıştır; PARK1-18 (64). Bunlardan altı tanesi otozomal dominant (PARK1, 4, 3, 5, 8, 11 ve 13), dört tanesi otozomal resesif (PARK2, 6, 7, ve 9) ve bir tanesi X'e bağlı (PARK 12) kalıtım paterni göstermektedir (65). Mutasyona uğrayan gene göre hastalığın başlangıç yaşı ve kliniğinde değişiklikler görülmektedir (Tablo 5). Genetik nedenlere bağlı PH tüm Parkinson hastalarının %10 kadarını oluşturmaktadır (66).

Dominant etkili mutasyonlar (SCNA, LRRK2) genellikle fonksiyon kazanımı etki yaratarak patojeniteye sebep olmaktadır. Bu iki şekilde gerçekleşebilir; ya normal proteinin artmış fonksiyonu sonucunda toksik etki gelişir, ya da mutasyon sonucunda protein yeni bir toksik fonksiyon kazanır (67, 68). Bazı dominant mutasyonlar fonksiyon kaybettiren etki ile proteinin normal aktivitesini gerçekleştirmesini engelleyerek patojeniteye sebep olurlar. Bazı dominant mutasyonlar da yabanıl tip allelin fonksiyonunda %50 ile %100 arasında kayba neden olarak dominant negatif mekanizma ile fonksiyon kaybettiren etkiye sebep olurlar (67).

Resesif etkili mutasyonların neredeyse tamamı (Parkin, PINK1, DJ-1, ATP13A2) fonksiyon kaybettiren etki ile proteinin normal aktivitesini gerçekleştirmesini engelleyerek patojeniteye sebep olurlar (67). Son zamanlarda



Parkinson hastalarında tanımlanan ve hastalık genetiğinden önemli ölçüde sorumlu olan bir diğer gen ise GBA genidir (69).

**Tablo 5:** PH genetiğinden sorumlu genler (64, 65, 70).

Gen adı	Kromozomal lokus	Başlangıç yaşı	Klinik	Patoloji
<b>Dominant kalıtım gösteren genler</b>				
PARK1 (SCNA)	4q21	30-80 (ortalama 60)	L-DOPA yanıtı olan PH	Diffüz Lewy cisimciği
PARK1 (SCNA)	12q12	31-71	L-DOPA yanıtı olan PH, bilişsel etkilenim, otonomik disfonksiyon, demans	Diffüz Lewy cisimciği, nigral ve hipokampal nöronal kayıp
PARK8 (LRRK2)		32-79 (ortalama 60)	L-DOPA yanıtı olan sporadik PH, distoni, amyotrofi, bakış aralizisi, demans	Beyin sapında Lewy cisimciği, nigral nöronal kayıp
<b>Resesif kalıtım gösteren genler</b>				
PARK2 (Parkin)	6q25.2-q27	12-58 (ortalama<45)	L-DOPA yanıtı olan PH, yavaş progresif	Nigral nöronal kayıp, synuclein patolojisi
PARK6 (PINK1)	1p35-p36	18-56 (ortalama<45)	L-DOPA yanıtı olan PH, yavaş progresif, sıklıkla akinetik form; postural instabilite ve yürüyüş bozukluğu eşlik eder	Bir olguda Lewy cisimciği
PARK7 (DJ-1)	1p36	24-39 (ortalama<40)	L-DOPA yanıtı olan PH, bilişsel etkilenim, psikolojik ve davranışsal bozukluklar, amyotrofi	Bilinmiyor
PARK9 (ATP13A2)	1p36	10-33 (ortalama<20)	L-DOPA yanıtı olan atipik PH, supranükleer bakış paralizisi, spastisite ve demans	Bazal gangliyonlarda demir birikimiyle giden nöroradyolojik atrofi

## GBA GENİ ve GLUKOSEREBROZİDAZ ENZİMİ

GBA geni 1q21 bölgesinde lokalize 11 ekson ve 10 introndan oluşan bir gen olup lizozomal glukoserebrozidaz enzimini (GCCase) kodlamaktadır (3). Yapılan Northern blot analizleri, alternatif poliadenilasyon bölgeleri nedeniyle genin 2.2 kb ve 2.6 kb uzunluğunda iki tane mRNA'sının olduğunu göstermiştir. GBA geninin iki tane başlangıç kodonu (ATG) bulunmaktadır. İlk ATG kodonu kodlanan 1. eksonda yer almakta ve 39 aminoasitlik (aa) bir sinyal peptit kodlamaktadır. İkinci ATG kodonu ise kodlanan 2. eksonda yer almakta ve 19 aa'lık bir sinyal peptidi kodlamaktadır (11). Enzim salgılandıktan sonra sinyal peptid uzaklaşmakta ve matür peptid meydana gelmektedir. Her iki başlangıç kodonu da 496 aa uzunluğunda olan matür proteini kodlamaktadır. Genin başlangıç kodonları Şekil 7'de altı çizili şekilde gösterilmiştir (3).

TTC	TCT	TCA	TCT	AAT	GAC	CCT	GAG	GGG	<u>ATG</u>	GAG	TTT	TCA	AGT	CCT
Phe	Ser	Ser	Ser	Asn	Asp	Pro	Glu	Gly	<u>Met</u>	Glu	Phe	Ser	Ser	Pro
TCC	AGA	GAG	GAA	TGT	CCC	AAG	CCT	TTG	AGT	AGG	GTA	AGC	ATC	<u>ATG</u>
Ser	Arg	Glu	Glu	Cys	Pro	Lys	Pro	Leu	Ser	Arg	Val	Ser	Ile	<u>Met</u>
GCT	GGC	AGC	CTC	ACA	GGT	TTG	CTT	CTA	CTT	CAG	GCA	GTG	TCG	TGG
Ala	Gly	Ser	Leu	Thr	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Val	Ser	Trp
GCA	TCA	GGT												
Ala	Ser	Gly												

Şekil 7: İnsan GBA geni başlangıç kodonları (71).

GCCase, 496 aa'lık bir lizozomal enzimdir. Yaygın olarak insanda her dokuda eksprese edilmektedir. Diğer lizozomal enzimler gibi endoplazmik retikulumda sentezlenmekte ve lizozomal membran reseptör proteini olan lysosomal-associated membrane protein 2A (LAMP2A)'ya bağlanarak aktifleşeceği organel olan lizozomlara taşınmaktadır (11). GCCase'nin lizozomlarda aktifleşmesi Saposin C aracılığıyla meydana gelmektedir. GCCase, bir glikolipit olan glukozilseramidi (GlcSer) glukoz ve seramide katalizlemektedir (72).

GCCase, kesintili 3 domaine sahiptir. Domain I; 3 zincirli anti-paralel  $\beta$  tabakadan oluşmaktadır. Enzimin doğru katlanmasıyla ilgili iki disülfid köprüsü

içermektedir. Domain II; immüoglobulin benzeri domain oluşturan iki beta tabakadan oluşmaktadır. Domain III; 8 zincirli  $\beta/\alpha$  trioz fosfat izomeraz (TIM) silindirden meydana gelmekte ve GCCase enziminin katalitik bölgesini içermektedir (11).

İnsan GCCase enziminin dört asparajin rezidüsünde glikolizasyon bölgeleri mevcuttur (N19, N59, N146, N270). Glikolizasyon, enzimin katalitik aktivitesi için gereklidir. N59, N146 ve N270 rezidülerinde meydana gelen mutasyonlar enzimin katalitik aktivitesini etkilememektedir. N19 rezidüsünde meydana gelen mutasyonlar ise enzimin katalitik aktivitesini inhibe etmektedirler (73).

Genin 16 kilobaz (kb) downstream bölgesinde GBA geniyle %96 eksonik dizi benzerliği gösteren bir psödogeni bulunmaktadır. Bu psödogen tüm gen dizi analizinde ve mutasyon tespitinde zorluklara neden olmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar GBA genindeki mutasyonları araştırırken, tüm gen dizi analizi yerine hedef mutasyonları analiz eden yöntemler tercih edebilmektedirler (67, 68).

## **GAUCHER HASTALIĞI**

GBA genindeki mutasyonlara bağlı Glukoserebrozidaz enzim eksikliğinde, bir lizozomal depo hastalığı olan Gaucher hastalığı görülmektedir. Gaucher hastalığında mononükleer fagositer sistemin üyesi olan makrofajlarda glukozilseramid birikimi görülmektedir (74). Bu glukozilseramid içeren makrofajlara Gaucher hücreleri adı verilmekte ve KC, dalak ve kemik iliğinde birikmektedir. Bu birikime bağlı olarak hastalarda hepatosplenomegali, anemi ve trombositopeni görülmektedir (3, 72). Hastalık; başlangıç yaşı, klinik bulguları ve SSS tutulumuna göre 3 tipe ayrılmaktadır. Tip I; SSS tutulumu olmayan tip, tip II; akut SSS tutulumuyla giden tip, tip III; kronik SSS tutulumu olan tip şeklinde özetlenebilir (75). Gaucher hastalarının KC'lerinde GCCase enzim aktivitesi %80 düzeylerinde azalmıştır (67). GBA geninde görülen N370S mutasyonu tip I Gaucher hastalığına sebep olurken, L444P mutasyonu tip III Gaucher hastalığına sebep olmaktadır (76). Tip I hem çocuklukta hem erişkin dönemde görülebilmekte ve non-nöronal

bulgularla seyretmektedir. Tip II ve III ise çocuklukta veya adölesan dönemde görülmekte ve nöronal tutulumla seyretmektedir (77).

## **PARKİNSON HASTALIĞI ve GBA GENİ**

Son yıllarda yapılan çalışmalarda PH ve GBA geni arasında güçlü bir ilişki tespit edilmiştir (78). Sidransky ve ekibi yaptıkları bir çalışmada Gaucher hastalığı tanımlı olguların ebeveynlerinin ve ikinci derece yakınlarının Parkinson hastası olduğunu fark etmişlerdir. Bu kişilerden *GBA* mutasyon analizi yaptıklarında, bu kişilerin heterozigot *GBA* mutasyonu taşıdığını tespit etmişlerdir (79). Bunun fark edilmesi üzerine, PH ve *GBA* arasındaki ilişkiyi araştırmak üzere pek çok çalışma yapılmıştır. *GBA* heterozigot mutasyon taşıyan Parkinson hastalarında GCase enzim aktivitesi %40-50 düzeylerinde azaldığından bu kişilerde Gaucher hastalığı fenotipi görülmemektedir (67).

Glukoserebrozidaz, Saposin C aracılığıyla lizozomlarda aktifleşerek bir glikolipit olan glukozilseramidi (GlcSer) glukoz ve seramide katalizleyen bir enzimdir. *GBA* genindeki mutasyonlar sonucunda bu enzim aktivitesi azalmakta, mutant protein ER'da hapsolmakta ve ER stresine neden olmaktadır (66).

*GBA* gen mutasyonları Parkinson hastalığının bilinen en sık genetik nedenidir ve PH tanısı alan olguların %5-10 kadarında görülmektedir (4, 11). Bu oran popülasyonlar arasında farklılık göstermektedir. PH tanısı alan Ashkenazi Yahudilerinde bu oran %15'lere kadar çıkmaktadır. Sağlıklı kontrol grubunda mutasyon saptanma oranı da yine popülasyonlar arasında farklılık göstermektedir (69). *GBA* gen mutasyonu taşıyan kişilerde PH görülme riski normal topluma göre 5 kat fazladır (78). Bunun yanı sıra riskin 20 kat arttığını gösteren yayınlar da bulunmaktadır (66).

*GBA* geninde psödogeni de içerecek şekilde yaklaşık 300 varyasyon tanımlanmıştır (nokta mutasyonları, ekson-intron kesim bölgesi mutasyonları, delesyon ve insersiyonlar, rekombinant alleller gibi) (3). *GBA* ilişkili PH'da görülen en sık mutasyonlar N370S, L444P, D409H, R120W, V394L, 84insGG, IVS2+1

G→A, IVS10-4 C→T, IVS10-1 G>A, V460V ve R496H şeklinde listelenebilir (3, 7, 9, 10).

PH'nda görülen *GBA* mutasyonları hem fonksiyon kazanımı hem de fonksiyon kaybettiren etki ile patojeniteye sebep olmaktadır (69). Fonksiyon kazanımı şeklinde etki eden mutasyonlar heterozigot mutasyonlardır. Bu mutasyonlar genellikle yanlış katlanmış GCse enzimi üretilmesine neden olmaktadır. Bu hatalı enzim, lizozomal disfonksiyon veya otofajide bozulma sonucu  $\alpha$ -sinüklein agregasyonu nedeniyle PH'na neden olmaktadır (11, 68).

*GBA* ilişkili PH'da daha az görülen homozigot mutasyonlar ise fonksiyon kaybettiren etki ile enzim eksikliğine sebep olarak mitokondriyal disfonksiyona, lipid ve  $\alpha$ -sinüklein akümülyasyonuna neden olmaktadır (11, 68).

*GBA* ilişkili Parkinson hastalarının klinik özellikleri heterozigot veya homozigot mutasyon saptananlarda benzer bulunmuştur. Mutasyon taşıyan hastaların motor bulguları mutasyon taşımayanlara göre 1.7-6.0 yıl önce başlamaktadır (68). Erken başlangıçlı hastalarda *GBA* mutasyon saptanma oranı geç başlangıçlı hastalara göre iki kat fazla bulunmuştur (80). Neumann ve ark. (81) 790 Parkinson hastasıyla yaptıkları bir çalışmada *GBA* mutasyon taşıyıcılarının genellikle erkek hastalar olduğunu, kognitif bozukluk, demans, ilaçla ilişkili olmayan halüsinasyon gibi bulguların mutasyon taşımayan hastalara göre daha sık olduğunu tespit etmişlerdir. Alcalay ve ark. (9) yaptıkları bir çalışmada; hastalara yapılan Mini Mental Muayene testinde (MMSE) *GBA* mutasyonu saptanan Parkinson hastalarının skorlarının mutasyon taşımayanlara göre daha düşük olduğunu saptamışlardır. Yapılan bir diğer çalışmada; PH belirtileri veya klinik progresyonu açısından UPDRS ve H&Y skorlarında *GBA* mutasyonu taşıyan ve mutasyon taşımayan hastalar arasında anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir (68). Patolojik veya nörogörüntüleme sonuçları ve L-DOPA tedavisine yanıt açısından da anlamlı fark tespit edilmeyen çalışmalar bulunmaktadır (11, 66).

$\alpha$ -sinüklein, GCse enzim aktivitesini engellemektedir. Saposin C, GCse'nin aktifleşmesi için gerekli bir kofaktördür. Yapılan bir çalışmada; saposin C'nin  $\alpha$ -sinüklein ile yer değiştirerek GCse'yi  $\alpha$ -sinüklein inhibisyonundan koruduğu

gösterilmiştir (82). Bu sonuçlar, saposin C'nin *GBA* ilişkili PH tedavisi için hedef molekül olabileceğini göstermektedir (82, 83). Bu nedenle Parkinson hastalarında *GBA* gen mutasyon taşıyıcılığının araştırılması önemlidir. Saposin C eksikliği olan hastaların nöronlarındaki  $\alpha$ -sinüklein birikimi, *GCCase* enzim aktivitesinde daha fazla azalmaya neden olmaktadır. Bu da, bazı *GBA* mutasyonu taşıyan Gaucher hastalarında neden nöronopatik bulgular görüldüğünü açıklayabilmektedir (82).

## **PARKINSON HASTALIĞI TEDAVİSİ**

PH tedavisinde; substantia nigradaki dopaminerjik nöronların harabiyetine bağlı azalan dopaminin yerine konması gerekmektedir. Dopamin, polar özelliğinden dolayı kan-beyin bariyerini geçemeyen bir moleküldür (84). Bu nedenle PH tedavisinde dopaminin öncü maddesi olan L-DOPA veya dopamin agonistleri kullanılmaktadır (17). Bunun yanı sıra katekol-O-metiltransferaz (*COMT*) inhibitörleri, monoamin oksidaz tip B (*MAOB*) inhibitörleri, antikolinergik ilaçlar da PH tedavisinde kullanılmaktadır (85).

PH tedavisinde altın standart kabul edilen L-DOPA tedavisi sırasında ilaca bağlı diskinezi, motor yanıt salınımlar gibi bazı yan etkiler görülebilmektedir (17). Bu yan etkiler doza bağımlıdır ve kolayca tedavi edilebilmektedir. Yan etkiler genç Parkinson hastalarında ileri yaş hastalara göre daha siktir ve tedavinin daha erken dönemlerinde ortaya çıkmaktadırlar (85).

L-DOPA tedavisine yanıt olan fakat ve ilaca bağlı diskinezi veya motor dalgalanmalar gelişen hastalara tedavide nörogirişimsel bir yöntem olan derin beyin stimülasyonu (*DBS*) uygulanmaktadır (86). *DBS*, bazal gangliyonlara yerleştirilen elektrotlar yardımıyla hedef beyin bölgesine elektrik akımı verilerek yapılan bir tedavi yöntemidir (17). Hedef bölge olarak sıklıkla *GPI* ve *STN* seçilmektedir. İkisi arasında etkinlik açısından çok farklı sonuçlar elde edilmemektedir (87).

## MATERYAL VE YÖNTEM

### MATERYAL

#### Çalışma grubu (Materyal)

Çalışmamıza, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı tarafından, tüm tetkikleri yapılarak genç ( $\leq 50$  yaş) ve idiyopatik (ileri yaş) ( $>50$  yaş) Parkinson hastalığı tanısı alan ve Tablo 6'daki dahil olma ve dışlama kriterlerini sağlayan 71 olgu dahil edilmiştir. Bu araştırma, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik komisyonu tarafından 28.06.2016 tarih ve 2016/13 sayılı kurul kararı ile onaylanmış olup Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonu tarafından desteklenmiştir. Dahil olma kriterlerini taşıyan olgulara çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul ettiklerine dair “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (hasta grubu) ve Bilgilendirilmiş Genetik Materyal Olur Formu (hasta grubu)” imzalatıldı ve her olgudan 3 adet K2E EDTA'lı tüpe (BD Vacutainer®) toplam 4-5 ml periferik kan örneği alındı. Alınan kanlar çalışmanın yapılacağı zamana kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ ' de bekletildi.

Kontrol grubu olarak Tablo 7'deki kriterleri karşılayan 116 birey çalışmaya dahil edilmiş olup, çalışmaya gönüllü olarak katıldıklarına dair “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (kontrol grubu) ve Bilgilendirilmiş Genetik Materyal Olur Formu (kontrol grubu)” imzalatılmıştır.

Alınan kanlardan öncelikle DNA (deoksiribonükleik asit) izolasyonu yapılarak erime eğrisi analizi ile mutasyonlar değerlendirilmiştir. Sonrasında, mutasyon saptanan hastalardan ve sağlıklı kontrolden RNA (ribonükleik asit) izolasyonu ve cDNA (komplementer DNA) sentezinin ardından real-time kantitatif PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi ile ekspresyon analizleri yapılmıştır.

**Tablo 6:** Hasta grubu için çalışmaya dahil olma ve dışlama kriterleri

<b>Dahil olma kriterleri</b>	<b>Dışlama kriterleri</b>
1) Erken başlangıçlı Parkinson hastalığı için hastalarda 50 yaşından önce parkinsonizm belirtilerinin başlamış olması	1) Progresif Parkinson belirtileri yanında tekrarlayan inme ataklarının olması
2) İdiyopatik Parkinson hastalığı için hastalarda 50 yaşından sonra parkinsonizm belirtilerinin başlamış olması	2) Geçirilmiş kafa travması öyküsü
3) Geçirilmiş kafa travmasının olmaması	3) Ensefalit öyküsünün varlığı
4) Ensefalit öyküsünün olmaması	4) Babinski refleksinin varlığı
5) Progresif Parkinson belirtileri yanında tekrarlayan inme ataklarının olmaması	5) Semptomlar başladığında nöroleptik tedavi almış olması
6) Semptomlar başladığında nöroleptik tedavi almamış olması	6) L-DOPA tedavisine yanıtızsızlık
7) L-DOPA tedavisine yanıt alınmıyor olması	7) MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6 tetrahidropiridin) ve benzeri toksik madde maruziyetinin olması
8) MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6 tetrahidropiridin) ve benzeri toksik madde maruziyetinin olmaması	

**Tablo 7:** Kontrol grubu için çalışmaya dahil olma ve dışlama kriterleri

<b>Dahil olma kriterleri</b>	<b>Dışlama kriterleri</b>
1) Parkinsonizm bulgularının olmaması	1) Parkinsonizm bulgularının varlığı
2) Parkinson hastalığı dışında tanı almış nörolojik bir hastalığının olmaması	2) Parkinson hastalığı dışında tanı almış nörolojik bir hastalığının varlığı
3) Ailede (1. derece akrabalarda) Parkinson hastalığı öyküsü olmaması	3) Ailede (1. derece akrabalarda) Parkinson hastalığı öyküsü varlığı



## **YÖNTEMLER**

### **DNA izolasyonu**

Periferik kan örneklerinden DNA izolasyonları ticari kit (High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche) kullanılarak gerçekleştirildi. DNA izolasyonu için uygulanan basamaklar aşağıdaki gibidir;

1. EDTA'lı tüplere alınan periferik kan örneklerinden 200 mikrolitre ( $\mu$ l) alınarak 2 mililitrelik (ml) ependorf tüplerine aktarıldı.
2. 200  $\mu$ l periferik kan örneklerine 200  $\mu$ l Binding Buffer ve 40  $\mu$ l Proteinaz K eklenerek maksimum hızda 10-15 saniye (sn) vortekslendi (pulse vorteks). Örnekler 72 ° C'de 30 dakika (dk) inkübe edildi.
3. İnkübasyon sonrasında örneklere 100  $\mu$ l isopropanol eklenerek maksimum hızda 10-15 sn vortekslendi (pulse vorteks).
4. Toplama tüplerinin üzerine filtreli tüpler yerleştirilerek lizatlar bu tüplere aktarıldı ve 8000 rcf'de (relative centrifugal force) 1 dk santrifüj edildi.
5. Filtreli tüpler temiz toplama tüplerine yerleştirildi ve üzerlerine 500  $\mu$ l Inhibitor Removal Buffer eklenerek tekrar 8000 rcf'de 1 dk santrifüj edildi.
6. Filtreli tüpler temiz toplama tüplerine yerleştirildi ve üzerlerine 500  $\mu$ l Wash Buffer eklenerek 8000 rcf'de 1 dk santrifüj edildi. Bu işlem 2 kez tekrarlandı.
7. Filtreli tüpler temiz toplama tüplerine yerleştirildi ve kalan Wash Buffer'ı uzaklaştırmak amacıyla boş şekilde 8000 rcf'de 1 dk santrifüj edildi.
8. Filtreli tüpler 2 ml'lik ependorflara aktarıldı ve üzerlerine daha önceden 72 ° C'de bekleyen Elusyon Buffer'dan 150  $\mu$ l eklenerek 8000 rcf'de 1 dk santrifüj edildi.
9. Filtreli tüpler atılıp DNA içeren süzüntü ependorf içinde saklandı.

### **Genomik DNA örneklerinin konsantrasyonlarının ve saflık değerlerinin belirlenmesi**

Hasta ve kontrol gruplarından alınan periferik kandan izole edilen genomik DNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflık değerleri, spektrofotometrik yöntemle

(Nanodrop 2000c, ThermoScientific) belirlendi. Konsantrasyon ölçümleri, spektrofotometrenin dsDNA (double strand DNA) programında gerçekleştirildi ve her örneğin “konsantrasyon” ve “A260/280” değerleri kaydedildi. Elde edilen değerler tablo halinde Ek 1 ve Ek 2’de gösterilmektedir.

### **Mutasyonların Gerçek Zamanlı PCR (*Real Time PCR*) Yöntemi ile Belirlenmesi**

GBA genindeki N370S (rs76763715), L444P (rs421016), D409H (rs1064651), 84insGG (rs387906315), IVS2+1 G>A (rs104886460), V394L (rs80356769), IVS10-1 G>A (rs189380051), IVS10-4 C>T (rs755265316), R120W (397515515), V460V (1135675) ve R496H (rs7582236) mutasyonlarının analizi için periferik kan örneklerinden elde edilen DNA’lar kullanılmıştır. Hedef bölgelerin gerçek zamanlı PCR ile amplifikasyonu ve ardından erime eğrisi (*melting curve analysis*) analizi yapılarak mutasyonlar değerlendirilmiştir. Mutasyonların yer aldığı hedef bölgeler, validasyonu yapılmış özgün primer ve hibridizasyon prob setleri (TIB Molbiol) kullanılarak çoğaltılmıştır. Kullanılan prob, Simple Prob teknolojisine göre dizayn edilmiş olup 5’ veya 3’ ucunda Fluorescein ile işaretli tek bir hibridizasyon probu içermektedir. Bu probda bir reporter boya, bir de quencher (söndürücü) bulunmaktadır. Serbest haldeyken reporter’ın yaydığı floresan bu söndürücü (quencher) tarafından emilmektedir. Hedef diziyeye bağlandığında ise LightCycler cihazının yaydığı LED ışık sayesinde reporter floresan ışığa yaymaktadır ve bu ışığa 510 nm dalga boyunda cihaz tarafından algılanmaktadır. Nükleotid dizilimine göre farklılık gösteren erime sıcaklıkları gerçek zamanlı PCR sistemleri ile tespit edilmekte ve yabanıl (wild) tip, heterozigot mutasyon veya homozigot mutasyon şeklinde sonuçlar elde edilmektedir.

Mutasyon analizleri gerçek zamanlı PCR sisteminde (LightCycler 480 Real Time PCR sistemi, Roche Diagnostics) yapılmıştır. PCR sonrası, her bir ampikonun tanımlanması için erime eğrisi analizi yapılmıştır.

Reaksiyon koşulları, “LightCycler-FastStart DNA Master Hybridization Probes” kiti (Roche Diagnostics) kullanılarak oluşturulmuştur. Hasta ve kontrol

gruplarında çoğaltılacak hedef bölgeler için toplam hacim 10 µl olacak şekilde reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Her bir SNP (Single [tek] Nükleotid Polimorfizm) için Tablo 8’de gösterilen reaksiyon karışımı ayrı ayrı hazırlanmıştır. Her bir mutasyon için bu karışımlardaki içerikler örnek sayısı ile çarpılarak PCR için gerekli miktar hazırlanmıştır. LightCycler 480 cihazına ait özel hazır 96 kuyucuklu plate’lere her mutasyon için ayrı ayrı reaksiyon karışımından 7.5 µl dağıtıldı ve üzerlerine her bir örneğe ait DNA örneklerinden 2.5 µl eklendi. Hazırlanan plate 450 rpm’de 1 dk santrifüj edildi ve sonrasında cihaza yerleştirildi. PCR-grade su PCR reaksiyonunun negatif kontrolü olarak kullanılmıştır.

**Tablo 8:** GBA genindeki 11 SNP için hazırlanan reaksiyon karışımı

Roche LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe	
Tek reaksiyon için (hacim)	Bileşenler
5,2 µl	Su, PCR-grade
0,8 µl	25 mM Mg <sup>2+</sup> solüsyonu
0,5µl	<i>İlgili LightSNP Miks</i>
1 µl	Enzim Karışımı
7,5 µl	TOPLAM

LightCycler 480 gerçek zamanlı PCR’da Denatürasyon, Amplifikasyon, Erime Eğrileri ve Soğutma basamaklarından oluşan termal profil protokolü uygulanmıştır. Optimize edilen gerçek zamanlı PCR protokolü Tablo 9’da gösterilmektedir.

**Tablo 9:** Mutasyon analizinde kullanılan gerçek zamanlı PCR protokolü

Program	Denatürasyon	Amplifikasyon			Erime eğrisi analizi			Soğutma
Analiz modu	yok	Kuantifikasyon modu			Erime Eğrisi modu			Yok
Döngü	1	60			1			1
Hedef [°C]	95	95	60	72	95	40	75	40
Süre [hh:mm:ss]	00:10:00	00:00:05	00:00:10	00:00:10	00:00:30	00:02:00	00:00:00	00:00:30
Ramp.Rate [°C/s]	4,4	4,4	2,2	4,4	4,4	1,5	-	1,5
Kazanım modu	yok	yok	Tek okuma	yok	yok	yok	Sürekli	yok

GBA genindeki N370S (rs76763715), L444P (rs421016), D409H (rs1064651), 84insGG (rs387906315), IVS2+1 G>A (rs104886460), V394L (rs80356769), IVS10-1 G>A (rs189380051), IVS10-4 C>T (rs755265316), R120W (397515515), V460V (1135675) ve R496H (rs7582236) mutasyonlarının erime eğrisi analizleri ile yapılan değerlendirmeleri sonucunda hasta ve kontrol grubuna ait bireylerin her mutasyon için ayrı ayrı genotiplendirilmeleri; homozigot (wild tip, mutant) ve heterozigot olarak belirlenmiştir.

Mutasyon saptanan hastalardan ve kontrolden RNA izolasyonu ve cDNA sentezinin ardından real time kantitatif PCR yöntemi ile ekspresyon analizleri yapılmıştır. Ekspresyon analizi için uygulanan basamaklar ve içerikleri sırayla verilmektedir.

### **Periferik Kan Örneklerinden RNA İzolasyonu**

Periferik kan örneklerinden RNA izolasyonları ticari kit (QIAamp RNA Blood Mini Kit, QIAGEN) kullanılarak gerçekleştirildi. RNA izolasyonu için uygulanan basamaklar aşağıdaki gibidir;

1. 2 ml periferik kan 15 ml'lik falkon tüpüne aktararak üzerine 10 ml Buffer EL eklendi.

2. Karışım 15 dk buz üzerinde bekletildi. Bu sırada falkon 2 kez alt-üst edildi.
3. 15 dk sonunda +4 °C soğutmalı santrifüjde 4000 rcf'de 10 dk santrifüj edildi.
4. Santrifüj sonrasında süpernatant atıldı ve pellet üzerine 10 ml Buffer EL eklenerek pellet kalkana kadar vortekslendi.
5. +4 °C soğutmalı santrifüjde 4000 rcf'de 10 dk santrifüj edildi.
6. Süpernatant atıldı ve 400 µl Buffer RLT + 4 µl β-merkaptoetanol karışımı pellet üzerine pipetaj yapılarak eklendi.
7. Oluşan lizat QIAshredder kolona aktarıldı ve 14.000 rpm'de (rotatory per minute) 3 dk santrifüj edildi.
8. Kolon atıldı. Lizat üzerine 400 µl %70 EtOH eklendi ve dikkatlice pipetaj yapıldı.
9. Oluşan karışım QIAamp kolonlara aktarıldı ve 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
10. Kolon yeni bir 2 ml'lik tüpe alındı. Üzerine 700 µl Buffer RWI eklendi ve 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
11. Kolon yeni bir 2 ml'lik tüpe alındı. Üzerine 500 µl Buffer RPE eklendi ve 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
12. Tekrar 500 µl Buffer RPE eklendi ve 14.000 rpm'de 4 dk santrifüj edildi.
13. Etanolü tamamen uzaklaştırmak için kolon yeni bir 2 ml'lik tüpe alınarak 14.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi.
14. QIAamp spin kolon ependorf tüpüne aktarıldı. 40 µl RNase free-H<sub>2</sub>O tam ortaya gelecek şekilde eklenerek 14.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi.
15. Kolonlar atıldı ve RNA içeren süzüntü ependorf içinde deneyin yapılacağı zamana kadar -80 °C'de saklandı.

### **RNA örneklerinin konsantrasyonlarının ve saflık değerlerinin belirlenmesi**

Hasta ve kontrol gruplarından alınan periferik kandan izole edilen RNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflık değerleri, spektrofotometrik yöntemle (Nanodrop 2000c, ThermoScientific) belirlendi. Konsantrasyon ölçümleri, spektrofotometrenin RNA programında gerçekleştirildi ve her örneğin

“konsantrasyon” ve “A260/280” değerleri kaydedildi. Elde edilen değerler tablo halinde Ek 3’te gösterilmektedir.

### **cDNA Sentezi**

cDNA sentezi için ipsogen RT Kit CE,QIAGEN kullanılmıştır. Toplam hacim 20 µl olacak şekilde RT master mix hazırlandı. Her hasta için 10 µl RNA 0.2 ml’lik ependorf tüplere dağıtıldı ve Thermal Cycler cihazında 65 °C’de 5 dk predenatürasyon aşaması uygulandı. Tek bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışım içeriği Tablo 10’da gösterilmiştir. Bu karışımdaki içerikler örnek sayısı ile çarpılarak gerekli miktar hazırlandı ve içinde örneklere ait RNA bulunan 0.2 ml’lik ependorf tüplerine dağıtıldı. cDNA sentezinde uygulanan basamaklar Tablo 11’de verilmiştir.

**Tablo 10:** cDNA sentezinde tek bir örnek için hazırlanan master mix karışımı

<b>Tek reaksiyon için (hacim)</b>	<b>Bileşenler</b>
5 µl	5X RT Buffer
2 µl	dNTP Mix
5.25 µl	RT Random Primer
0.5 µl	RNAase inhibitor
1 µl	Reverse Transcriptase
1.25 µl	DTT
15 µl	Toplam

**Tablo 11:** cDNA sentezinde Thermal Cycler cihazında uygulanan basamaklar

	<b>1.Basamak</b>	<b>2.Basamak</b>	<b>3.Basamak</b>	<b>4.Basamak</b>
<b>Sıcaklık (°C)</b>	25	50	85	4
<b>Zaman</b>	10 dakika	60 dakika	5 dakika	∞

Thermal cycler aşamasından sonra gerçek zamanlı kantitatif PCR yöntemi ile ekspresyon analizleri yapıldı.

### **Ekspresyonların Gerçek Zamanlı Kantitatif PCR Yöntemi İle Belirlenmesi**

GBA gen ekspresyonunun analizi için periferik kan örneklerinden elde edilen RNA'lerden sentezlenen cDNA'lar kullanılmıştır. Real Time PCR sistemi (LightCycler 480 Real Time PCR sistemi, Roche Diagnostics) kullanılarak GBA (hedef gen) ve GAPDH (referans gen) genleri için relatif kantitasyon analizi yapılmıştır. Hedef gen ve referans genin mRNA düzeyinde ekspresyon analizi için unsature bir boya olan Sybr Green I kullanılmıştır. GBA geninin ekspresyonu için tasarlanan *forward* primer 5'-CACCCCTGAACATCAGCGAGA-3' ve *reverse* primer 5'-TGTCAGTACCACCTTTGCCCA-3' şeklindedir.

Hasta ve kontrol gruplarının hedef gen ve referans gen mRNA ekspresyonları için hazırlanan PCR karışımının bileşenleri Tablo 12'de verilmektedir.

**Tablo 12:** GBA (hedef gen) ve GAPDH (referans gen) genlerinin mRNA ekspresyon analizi için hazırlanan reaksiyon karışımı

Tek reaksiyon (hacim)	Bileşenler	Tek reaksiyon (hacim)	Bileşenler
5 µl	Sybr Green	5 µl	Sybr Green
2 µl	Su, PCR grade	2 µl	Su, PCR grade
1 µl	GBA F primer	1 µl	GAPDH F primer
1 µl	GBA R primer	1 µl	GAPDH R primer

Hazırlanan bu reaksiyon karışımının Light Cycler 480II cihazına ait plate kuyucuklarına 9 µl olacak şekilde dağıtılmasının ardından toplam hacim 10 µl olacak şekilde her bir örnek için 1 µl cDNA eklendi. Hazırlanan plate 450 rpm'de 1 dk

santrifüj edildi ve sonrasında cihaza yerleştirildi. Tablo 13’de gösterilen protokol uygulanarak ekspresyon analizi gerçekleştirildi.

**Tablo 13:** Ekspresyon analizi için kullanılan Real Time PCR protokolü

Program	Denatürasyon	Amplifikasyon			Soğutma
Analiz modu	yok	Kuantifikasyon modu			yok
Döngü	1	50			1
Hedef [°C]	95	95	60	50	40
Süre [hh:mm:ss]	00:10:00	00:00:10	00:01:00	00:00:10	00:00:30
Kazanım modu	yok	yok	yok	Tek okuma	yok

Ekspresyon analizi sonucunda Comparative Ct ( $\Delta\Delta C_t$ ) yöntemi kullanılarak elde edilen sonuçların relatif kantitasyonu yapılmıştır. Hasta ve kontrol grubuna ait her örneğin eşik döngü ( $C_T$ =threshold cycle) değerleri hem hedef gen olan *GBA* hem de internal kontrol gen olan *GAPDH* için LightCycler Relatif Kantitasyon Yazılım Programı kullanılarak üçer kez hesaplanmıştır. Her örneğe ait elde edilen hedef gen ekspresyonu, referans gen olan *GAPDH* ekspresyonuna göre normalize edilmiştir. Bu değer  $\Delta C_T$  olarak belirtilmektedir.  $\Delta C_T$  hesaplaması için kullanılan denklem,  $\Delta C_T = C_{T\ GBA} - C_{T\ GAPDH}$  şeklindedir.

Hasta ve kontrol grubunun *GBA* ekspresyon düzeylerini karşılaştırmak için iki grubun ortalama  $\Delta C_T$  değerleri yukarıda bahsedilen formül uygulanarak hesaplanmıştır;  $(\Delta C_{T-H1} + \Delta C_{T-H2} + \dots + \Delta C_{T-H8}) / 8$  ve  $(\Delta C_{T-K1} + \Delta C_{T-K2} + \dots + \Delta C_{T-K8}) / 7$ .

Bulunan  $\Delta C_T$  değerleri hasta ve kontrol grupları arasında oranlanarak  $\Delta\Delta C_t$  belirlenmiş ve hasta ve kontrol grubu arasında mRNA ekspresyon miktarları açısından kaç kat fark olduğu belirlenmiştir.



### **İstatistiksel analiz**

Veriler SPSS paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma, medyan (minimum ve maksimum değerler) ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelenmiştir. Tüm analizlerde  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya, 71 Parkinson hastası dahil edilmiştir. Bu hastaların 33 tanesi genç yaş ( $\leq 50$ ) Parkinson hastası iken 38 tanesi idiyopatik (ileri yaş) ( $> 50$ ) Parkinson hastasıdır. Kontrol grubu olarak ise kendisinde ve birinci derece yakınlarında Parkinson hastalığı bulunmayan 116 birey çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalar ve kontrollerde GBA geninde en sık görülen 11 mutasyon araştırılmıştır. Mutasyon saptanan bireylerden ve kontrol grubundan lökosit GBA gen ekspresyon düzeyi analizleri ve mutasyon saptanan hastalardan Glukoserebrozidaz enzim düzeyi analizleri yapılmıştır. Aynı zamanda hasta grubundan her bireye, hastalığın motor bulgularını değerlendirmeye yönelik UPDRS (Ek 5), non-motor bulguları değerlendirmeye yönelik non-motor anketi (Ek 8), kognitif durum muayenesi için MMSE ve ACE-R kognitif muayene testleri (Ek 7), duygu-durum değerlendirmesi için Hamilton depresyon değerlendirme ölçeği (Ek 6) uygulanmıştır. Elde ettiğimiz veriler 3 aşamada değerlendirilmiştir.

**1. aşamada;** Parkinson hastaları ve kontrol grubu arasında GBA gen mutasyonları saptanma oranı açısından anlamlı bir fark olup olmadığı incelendi. Saptanan mutasyonlar açısından hasta ve kontrol grubu arasında farklılık olup olmadığı ele alındı.

**2. aşamada;** hastalar, hastalık başlangıç yaşına göre gruplara ayrıldığında (genç yaş/ileri yaş PH), mutasyon saptanma oranları açısından bu gruplar arasında fark olup olmadığı araştırıldı.

Mutasyon saptanma oranı açısından genç yaş ve ileri yaş Parkinson hasta grupları arasında fark tespit edilmeyebilmekte, ancak, mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında klinik parametreler açısından fark saptanabilmektedir. Bu nedenle **analizin 3. aşamasında** mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar; prodromal belirti, hastalık başlangıç semptomu, hastalık alt tipi, hastalık evresi (H&Y skoru), aile öyküsü pozitifliği, L-DOPA yanıtı, DBS gerekliliği, kognitif performans gibi klinik parametreler açısından karşılaştırılmıştır.

## Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik ve Klinik Özellikleri

**Analizin 1. aşamasında;** Parkinson hastaları ve kontrol grubu arasında GBA gen mutasyonları saptanma oranı açısından anlamlı bir fark olup olmadığı incelendi. Saptanan mutasyonlar açısından hasta ve kontrol grubu arasında farklılık olup olmadığı ele alındı. Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri Tablo 14’te özetlenmiştir.

**Tablo 14:** Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri.

Özellik	Hasta (n=71)	Kontrol (n=116)	p değeri
<b>Yaş</b> Ortalama $\pm$ Std. Sapma Med (min – maks)	61,8 $\pm$ 10,7 64 (36-90)	55,5 $\pm$ 12,3 55,5 (31 - 87)	0,001*
<b>Cinsiyet</b> Erkek Kadın	46 (%64,8) 25 (%35,2)	53 (%45,7) 63 (%54,3)	0,011*

Tablo 14’deki veriler incelendiğinde, hasta grubunun yaş ortalaması 61,8 $\pm$  10,7 (en küçüğü 36, en büyüğü 90), kontrol grubunun yaş ortalaması ise 55,5 $\pm$  12,3 (en küçüğü 31, en büyüğü 87) olarak saptanmıştır. Cinsiyet olarak ele aldığımızda; hasta grubu 46 erkek (%64,8), 25 kadından (%35,2); kontrol grubu ise 53 erkek (%45,7) ve 63 kadından (54,3) oluşmaktadır. Hasta grubunda, erkek hastaların kadın hastalara oranı yaklaşık 2’dir.

Çalışmada GBA geninde 11 hedef mutasyon taranmıştır. Sonuçlara baktığımızda Tablo 15’te de yer aldığı gibi, **hasta grubunda 11 hastada (%15,5)** mutasyon saptanmıştır. **Kontrol grubunda ise 3 kişide (%2,6)** mutasyon saptanmıştır. **Hasta ve kontrol grubunda, mutasyon saptanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p=0,001).** Mutasyon saptanan 3 sağlıklı kontrolün yaşları sırasıyla 32, 38 ve 41’dir (ort.=37).

Hasta ve kontrollerde saptanan mutasyonların dağılımı Tablo 15’te gösterilmektedir. Hasta grubunda mutasyon saptanan 11 hastanın 10 tanesinde

R496H mutasyonu, 1 tanesinde de L444P mutasyonu, kontrol grubunda ise mutasyon saptanan 3 kişinin üçünde de R496H mutasyonu saptanmıştır.

**Tablo 15:** Hasta ve kontrol grubunda saptanan GBA mutasyon oranları ve saptanan mutasyonların dağılımı

	Hasta (n=71)	Kontrol (n=116)	p değeri
<b>Mutasyon varlığı</b>	11 (%15,5)	3 (%2,6)	0,001*
<b>Mutasyon tipi</b>			
R496H	10 (%14)	3 (%2,6)	
L444P	1 (%1,4)	-	

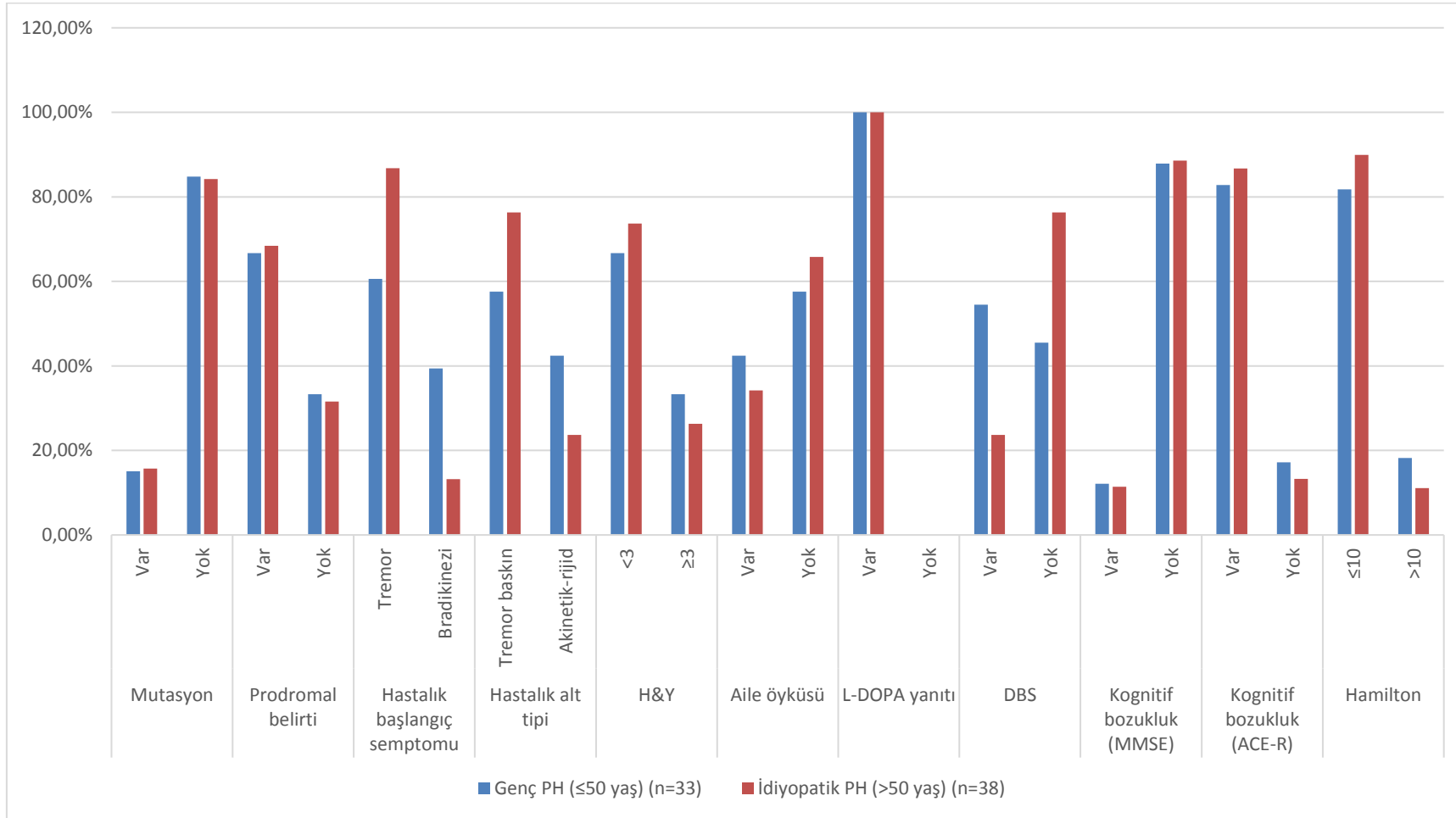
**Analizin 2. aşamasında;** hastalar, hastalık başlangıç yaşına göre gruplara ayrıldığında (genç yaş/ileri yaş PH), mutasyon saptanma oranları açısından bu gruplar arasında fark olup olmadığı araştırıldı.

Hastalar, öncelikle **hastalık başlangıç yaşına göre; genç yaş PH ( $\leq 50$  yaş)** ve **idiyopatik PH ( $> 50$  yaş)** olmak üzere iki gruba ayrıldı. (Tablo 16). Her iki grup da; mutasyon görülme oranı, prodromal belirti varlığı, hastalık başlangıç semptomu, hastalık alt tipi (tremor baskın tip/akinetik-rijid tip), H&Y skoru, ailede hareket bozukluğu öyküsü, L-DOPA yanıtı, DBS operasyonu, kognitif performans ve hamilton depresyon skoru gibi parametreler açısından Tablo 16 ve Şekil 8'de gösterildiği şekilde birbirleriyle karşılaştırıldı.

**Tablo 16:** Parametrelerin genç PH-idiyopatik PH arasında ayrı ayrı karşılaştırılması

	<b>Genç PH (≤50 yaş) (n=33)</b>	<b>İdiyopatik PH (&gt;50 yaş) (n=38)</b>	<b>p değeri</b>
<b>Mutasyon</b>			
Var	5 (%15,1)	6 (%15,7)	0,941
Yok	28 (%84,8)	32 (%84,2)	
<b>Prodromal belirti</b>			
Var	22(%66,7)	26 (%68,4)	0,875
Yok	11 (%33,3)	12 (%31,6)	
<b>Hastalık başlangıç semptomu</b>			
Tremor	20 (%60,6)	33 (%86,8)	0,011*
Bradikinezi	13 (%39,4)	5 (%13,2)	
<b>Hastalık alt tipi</b>			
Tremor baskın	19 (%57,6)	29 (%76,3)	0,092
Akinetik-rijid	14 (%42,4)	9 (%23,7)	
<b>H&amp;Y</b>			
<3	22 (%66,7)	28 (%73,7)	0,518
≥3	11 (%33,3)	10 (%26,3)	
<b>Aile öyküsü</b>			
Var	14 (%42,4)	13 (%34,2)	0,477
Yok	19 (%57,6)	25 (%65,8)	
<b>L-DOPA yanıtı</b>			
Var	33 (%100)	38 (%100)	1,00
Yok	0 (%0)	0 (%0)	
<b>DBS</b>			
Var	18 (%54,5)	9 (%23,7)	0,008*
Yok	15 (%45,5)	29 (%76,3)	
<b>Kognitif bozukluk (MMSE)</b>			
Var	4 (%12,1)	5 (%11,4)	1,00
Yok	29 (%87,9)	31 (%88,6)	
*		3	
<b>Kognitif bozukluk (ACE-R)</b>			
Var	24 (%82,8)	26 (%86,7)	0,731
Yok	5 (%17,2)	4 (%13,3)	
*	4	8	
<b>Hamilton</b>			
≤10	27 (%81,8)	32 (%89,9)	0,502
>10	6 (%18,2)	4 (%11,1)	
*		3	

\*: test yapılamayan hasta sayısı,  
DBS: Derin beyin stimülasyonu



**Şekil 8:** Parametrelerin grafikler ile genç PH ve idiopatik PH arasında ayrı ayrı karşılaştırılması

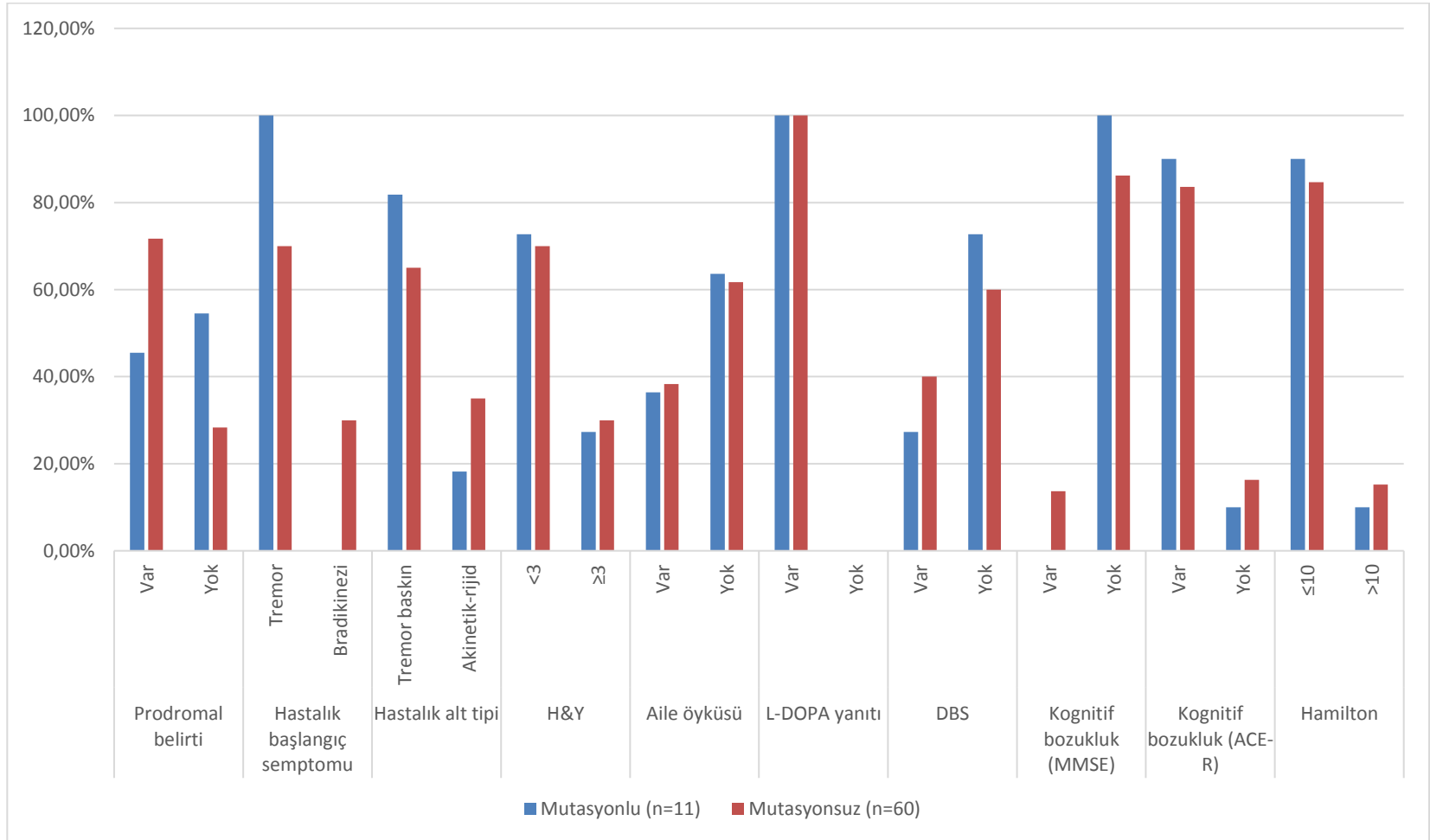
Tablo 16'daki ve Şekil 8'deki verilere baktığımızda; **genç yaş Parkinson hasta grubunda mutasyon saptanma oranı %15,1, ileri yaş (idiyopatik) Parkinson hasta grubunda ise mutasyon saptanma oranı %15,7 olarak bulunmuştur.** İstatistiksel olarak genç başlangıçlı Parkinson hastaları ile ileri yaş Parkinson hastaları arasında mutasyon saptanma oranları açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. İki grup arasında prodromal belirti, hastalık alt tipi, hastalık evresi (H&Y skoru), aile öyküsü, L-DOPA yanıtı, kognitif performans ve hamilton depresyon skalası skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Genç yaş hastalar ve ileri yaş hastalar arasında, hastalık başlangıç semptomu açısından anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p=0,011$ ). Buna göre, her iki grupta da en sık başlangıç semptomu tremor olmakla birlikte, genç yaş hastaların %60,6'sında başlangıç semptomu tremor iken, ileri yaş Parkinson hastalarında bu oranın %86.8 olması dikkat çekmektedir. İstatistiksel olarak anlamlı fark saptanan bir diğer parametre ise, genç yaş ve idiyopatik Parkinson hastaları arasındaki DBS operasyonu geçirme oranıdır ( $p=0,008$ ). Buna göre, genç yaş hastaların %54,5 kadarında DBS operasyonu öyküsü varken, idiyopatik Parkinson hasta grubunda bu oran %23,7 şeklindedir. Aile öyküsü pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamasına rağmen, genç yaş Parkinson hastalarında aile öyküsü pozitifliği %42,4 iken idiyopatik Parkinson hastalarında bu oranın %34,2 olması dikkat çekmektedir. Hastaların toplamını ele aldığımızda ise aile öyküsü pozitifliği %38 oranındadır.

**Mutasyon saptanma oranı açısından genç yaş ve ileri yaş Parkinson hasta grupları arasında anlamlı fark tespit edilmedi.** Ancak, mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında klinik parametreler açısından farklılıklar olabilmektedir. Bu nedenle **analizin 3. aşamasında, mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar;** prodromal belirti, hastalık başlangıç semptomu, hastalık alt tipi, hastalık evresi (H&Y skoru), aile öyküsü pozitifliği, L-DOPA yanıtı, DBS gerekliliği, kognitif performans gibi klinik parametreler açısından Tablo 17 ve Şekil 9'da gösterildiği şekilde birbiriyle karşılaştırılmıştır.

**Tablo 17:** Parametrelerin *GBA* mutasyonu saptanan ve saptanmayan hastalar arasında ayrı ayrı karşılaştırılması

	<i>GBA</i> mutasyonu saptanan (n=11)	<i>GBA</i> mutasyonu saptanmayan (n=60)	p değeri
<b>Prodromal belirti</b>			
Var	5 (%45,5)	43 (%71,7)	0,157
Yok	6 (%54,5)	17 (%28,3)	
<b>Hastalık başlangıç semptomu</b>			
Tremor	11 (%100)	42 (%70)	0,05*
Bradikinezi	0 (%0)	18 (%30)	
<b>Hastalık alt tipi</b>			
Tremor baskın	9 (%81,8)	39 (%65)	0,484
Akinetik-rijid	2 (%18,2)	21 (%35)	
<b>H&amp;Y</b>			
<3	8 (%72,7)	42 (%70)	1,00
≥3	3 (%27,3)	18 (%30)	
<b>Aile öyküsü</b>			
Var	4 (%36,4)	23 (%38,3)	0,902
Yok	7 (%63,6)	37 (%61,7)	
<b>L-DOPA yanıtı</b>			
Var	11 (%100)	60(%100)	1,00
Yok	0 (%0)	0 (%0)	
<b>DBS</b>			
Var	3 (%27,3)	24 (%40)	0,515
Yok	8 (%72,7)	36 (%60)	
<b>Kognitif bozukluk (MMSE)</b>			
Var	0 (%0)	8 (%13,7)	0,593
Yok	10 (%100)	50 (%86,2)	
*	1	2	
<b>Kognitif bozukluk (ACE-R)</b>			
Var	9 (%90)	41 (%83,6)	1,00
Yok	1 (%10)	8 (%16,3)	
*	1	11	
<b>Hamilton</b>			
≤10	9 (%90)	50 (%84,7)	1,00
>10	1 (%10)	9 (%15,2)	
*	1	2	





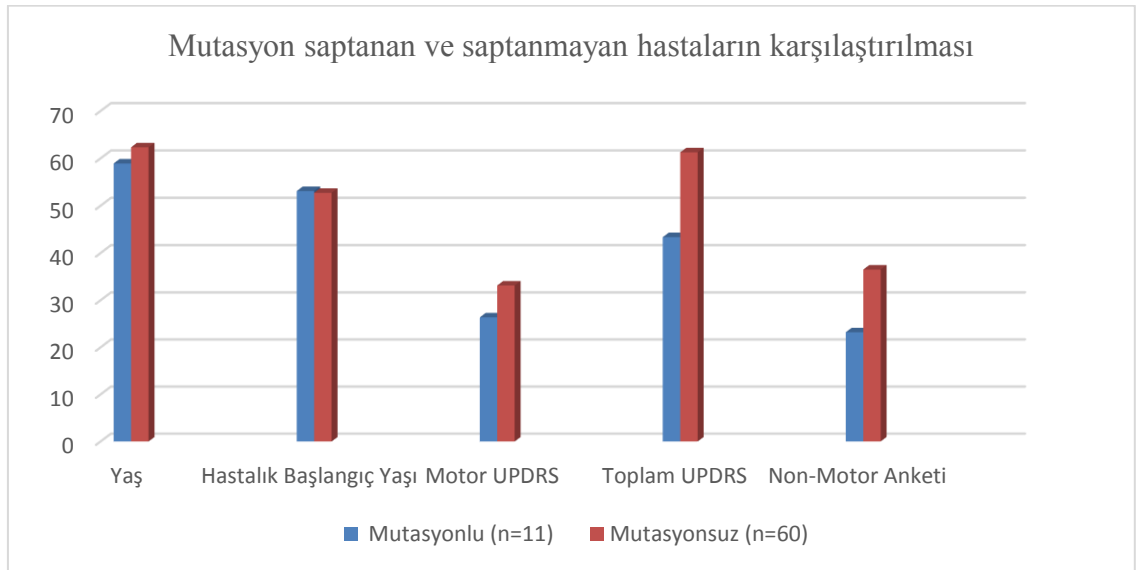
**Şekil 9:** Parametrelerin *GBA* mutasyonu saptanan ve saptanmayan hastalar arasında grafiklerle ayrı ayrı karşılaştırılması

**Tablo 17 ve Şekil 9 incelendiğinde;** mutasyon saptanan hastalar ile mutasyon saptanmayanlar arasında prodromal belirti, hastalık alt tipi, H&Y skoru, aile öyküsü, L-DOPA yanıtı, DBS, kognitif bozukluk ve hamilton depresyon skalası skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Hastalık başlangıç semptomu açısından istatistiksel anlamlı bir sonuç elde edilmiştir (p=0,05). Buna göre, mutasyon saptanan hastaların tamamında (%100), mutasyon saptanmayan hastaların da %70 kadar büyük bir oranında hastalık başlangıç semptomu tremordur. Mutasyon saptanan hastaların %100'ünde hastalık başlangıç semptomunun tremor olmasına rağmen, hastaların %81,8'inde tremor baskın hastalık alt tipi gözlenmektedir. Bu durumda, hastalık alt tipi, hastalık başlangıç semptomundan bağımsız olarak hastalığın ilerleyen evrelerinde farklılık gösterebilmektedir. Mutasyon saptanan hastaların %36,4 kadarında, mutasyon saptanmayan hastaların da %38,3 kadarında aile öyküsü pozitifliği saptanmıştır. Aile öyküsü pozitifliği açısından mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar karşılaştırıldığında (Tablo 18 ve Şekil 10); yaş, hastalık başlangıç yaşı, toplam UPDRS skoru, motor UPDRS skoru ve non-motor anketi skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Mutasyon saptanan hastaların hastalık başlangıç yaş ortalaması  $53,91 \pm 11,55$ , mutasyon saptanmayan hastaların hastalık başlangıç yaş ortalaması  $52,72 \pm 12,19$  şeklinde bulunmuştur. Hastalık başlangıç yaşı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamasına rağmen her iki grubun ortalama **hastalık başlangıç yaşlarının birbirine yakın olması** dikkat çekmektedir.

**Tablo 18 :** Mutasyon saptanan ve saptanmayan hastaların parametrelerinin karşılaştırılması.

	Mutasyonlu (n=11)	Mutasyonsuz (n=60)	p değeri
<b>Yaş</b> Ortalama $\pm$ Std. Sapma Med (min - maks)	58,91 $\pm$ 11,34 57 (38 - 80)	62,33 $\pm$ 10,71 64,5 (36 - 90)	0,337
<b>Hastalık Başlangıç Yaşı</b> Ortalama $\pm$ Std. Sapma Med (min - maks)	53,09 $\pm$ 11,55 53 (36 - 74)	52,72 $\pm$ 12,19 52 (28 - 76)	0,925
<b>Motor UPDRS</b> Ortalama $\pm$ Std. Sapma Med (min - maks)	26,36 $\pm$ 13,79 24 (5 - 52)	33,13 $\pm$ 21,61 28,5 (3 - 86)	0,238
<b>Toplam UPDRS</b> Ortalama $\pm$ Std. Sapma Med (min - maks)	43,36 $\pm$ 19,24 42 (7 - 67)	61,27 $\pm$ 29,47 59 (9 - 136)	0,057
<b>Non-Motor Anketi</b> Ortalama $\pm$ Std. Sapma Med (min - maks)	23,2 $\pm$ 12,25 22 (6 - 41)	36,51 $\pm$ 28,5 33 (0 - 172)	0,138



**Şekil 10:** Mutasyon saptanan ve saptanmayan hastaların parametrelerinin grafik ile karşılaştırılması.

*GBA* mutasyonu saptanan 11 hastanın klinik özellikleri Tablo 19’da belirtilmektedir. Mutasyon saptanan genç yaş hastaların hastalık başlangıç yaş ortalaması 42,8’dir. Mutasyon saptanan ileri yaş hastaların hastalık başlangıç yaş ortalaması ise 61,6’dır. **Mutasyon saptanan hastaların tamamında hastalık**

**başlangıç semptomu tremordur.** Hastaların 7 (%63,6) tanesinde ACE-R testine göre kognitif bozukluk saptanmıştır. Parkinson hastalığı açısından aile öyküsü pozitifliği, mutasyon saptanana 4 (%36,3) hastada mevcuttur. Mutasyon saptanan hiçbir hastada otonom tutulum gözlenmemiştir. Mutasyon saptanan 11 hastadan 3 (%27,2) tanesi DBS operasyonu geçirmiştir. Hastaların 10 tanesinde R496H mutasyonu saptanırken sadece 1 hastada L444P mutasyonu saptanmıştır.

**Tablo 19:** GBA mutasyonu saptanan hastaların klinik özellikleri

	Hastalar										
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11
<b>Mutasyon</b>	R496H	R496H	R496H	R496H	R496H	R496H	R496H	R496H	L444P	R496H	R496H
<b>Cinsiyet</b>	E	E	E	K	E	K	E	E	K	E	K
<b>Yaş</b>	53	55	38	47	57	80	64	55	67	65	67
<b>Hastalık başlangıç yaşı</b>	47	43	36	40	48	74	63	53	57	59	64
<b>Öncü belirti</b>	Yok	Yok	Yok	Maske yüz, anksiyete, yazı değişikliği	Maske yüz konstipasyon,	Maske yüz, anosmi, konstipasyon	Maske yüz, anosmi	Yok	Yok	Maske yüz, hipofoni, konstipasyon	Yok
<b>İlk semptom</b>	Tremor	Tremor	Tremor	Tremor	Tremor	Tremor	Tremor	Tremor	Tremor	Tremor	Tremor
<b>Tutulmuş taraf</b>	Sağ	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sol	Sağ	Sağ	Sağ	Sağ	Sol
<b>Alt tip</b>	Tremor baskın	Tremor baskın	Tremor baskın	Tremor baskın	Tremor baskın	Tremor baskın	Akinetik-rijid	Tremor baskın	Tremor baskın	Tremor baskın	Akinetik-rijid
<b>H&amp;Y</b>	1	3	1	2	3	2	1	1	2	3	2

**Tablo 19'un devamı**

<b>Motor UPDRS</b>	16	42	28	52	24	34	21	5	12	36	34
<b>Kognitif bozukluk (ACE-R)</b>	Yok	Var	Yok	Yok	Var	Var	Var	Var	Var	*	Var
<b>Depresyon</b>	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	*	Yok
<b>Aile öyküsü</b>	Var	Yok	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Yok	Yok
<b>Otonom tutulum</b>	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
<b>DBS</b>	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Var	Yok
<b>GCase enzim düzeyi** (nmol/sa/mg)</b>	*	17	*	19	15	17	*	19	12	*	16

\*: Bilinmiyor.

\*\* : Referans değerler 5-13,5 nmol/sa/mg

DBS: Derin beyin stimülasyonu

Hastaların kognitif performanslarını değerlendirmek için MMSE ve ACE-R kognitif performans değerlendirme ölçekleri kullanıldı. Test sonuçlarının yorumlanmasında hastaların eğitim durumları göz önünde bulundurularak bazı eşik değerler baz alındı. Buna göre, **MMSE testi için eşik değerler**, Tablo 20’de gösterildiği gibi, 5 yıldan daha az eğitim düzeyine sahip hastalar için 19 olarak, 5 yıl ve daha fazla eğitim alan hastalar için ise 23 olarak belirlenmiş ve istatistiksel analizler bu eşik değerlere göre hesaplanmıştır. Analiz sonuçlarına göre; 5 yıldan az eğitim alan 12 hastanın 10’una test uygulanabilmiş ve 1 tanesinde kognitif bozukluk saptanmıştır. 5 yıl ve daha fazla eğitim alan 59 hastanın ise 57’sine test uygulanabilmiş ve 7 tanesinde kognitif bozukluk saptanmıştır.

**Tablo 20:** Hastaların eğitim düzeylerine göre MMSE eşik değerleri ve değerlere göre hastaların dağılımı

Eğitim düzeyi	Eşik değerler			
	<19	≥19	<23	≥23
<5 yıl (n=12) *	1	9		
	2			
≥5 yıl (n=59) *			7	50
			2	

\*: Testin yapılamadığı hasta sayısı

**ACE-R testi için ise eşik değerler** Tablo 21’de gösterildiği gibi, 5 yıldan daha az eğitim düzeyine sahip hastalar için 72 olarak, 5-12 yıl eğitim alan hastalar için 82 olarak ve 12 yıl ve daha fazla eğitim alan hastalar için de 88 olarak belirlenmiş ve istatistiksel analizler bu eşik değerlere göre hesaplanmıştır. Analiz sonuçlarına göre; 5 yıldan az eğitim alan 12 hastanın 3’üne test uygulanabilmiş ve üçünde de kognitif bozukluk saptanmıştır. 5-12 yıl eğitim alan 55 hastanın 51’ine test uygulanabilmiş ve 44 tanesinde kognitif bozukluk saptanmıştır. 12 yıldan daha fazla eğitim alan 4 hastanın ise tamamına test uygulanmış ve üçünde kognitif bozukluk saptanmıştır.

**Tablo 21:** Hastaların eğitim düzeylerine göre ACE-R eşik değerleri ve değerlere göre hastaların dağılımı

Eğitim düzeyi	Eşik değerler						
	<72		≥72		<88		≥88
<5 yıl (n=12) *	3	0					
5-12 yıl (n=55) *		9	44	7			
>12 yıl (n=4)				4	3		1

\*: Testin yapılamadığı hasta sayısı.

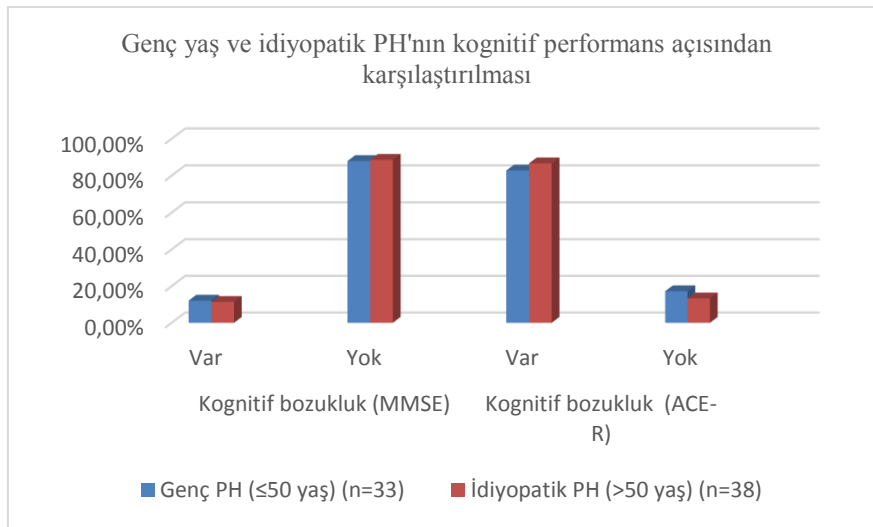
Hastalara uygulanan **MMSE ve ACE-R testlerinin sonuçları birlikte değerlendirildiğinde**, Tablo 22’de gösterildiği şekilde, **her iki teste göre kognitif bozukluk saptanan hasta sayısı 4’tür**. Her iki teste göre normal olarak değerlendirilen hasta sayısı 9’dur. **MMSE testine göre normal saptanan 45 hasta ACE-R testine göre kognitif bozukluk saptanan hastalardır**. MMSE testine göre 4 hastada kognitif bozukluk saptanmış, 54 hasta normal olarak değerlendirilmiştir. ACE-R testine göre ise 49 hastada kognitif bozukluk saptanmış, 9 hasta normal olarak değerlendirilmiştir. MMSE ve ACE-R testlerinin sonuçları arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,00$ ). Yani, MMSE testi, ACE-R testinin kognitif bozukluk saptadığı 45 hastayı normal olarak değerlendirmiş, diğer bir ifadeyle, kognitif bozukluğu olan 45 hastayı yakalayamamıştır.



**Tablo 22:** MMSE ve ACE-R testlerinin kognitif bozukluk saptanan hastaları belirleme oranları.

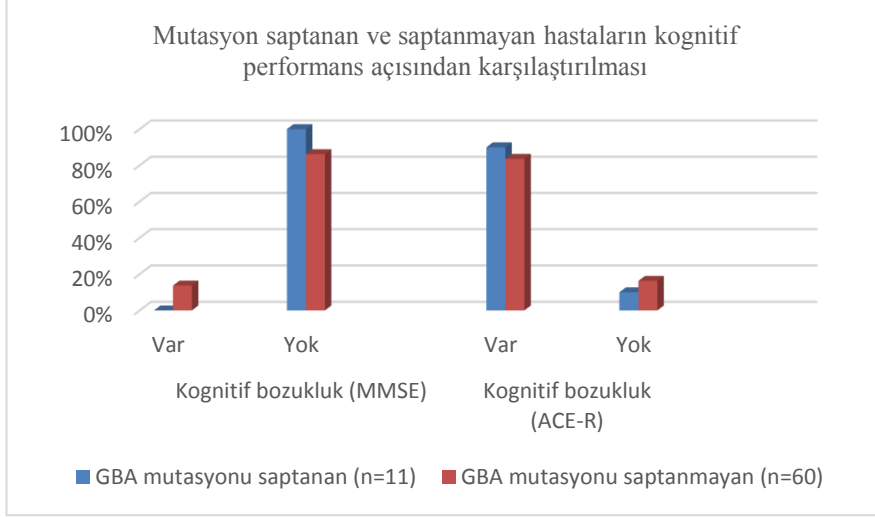
		MMSE		Toplam	p değeri
		Kognitif bozukluk saptanan	Normal		
ACE-R	Kognitif bozukluk saptanan	4 %6,9	45 %77,6	49 %84,5	0,00*
	Normal	0 %0,0	9 %15,5	9 %15,5	
Toplam		4 %6,9	54 %93,1	58 %100	

Hastalarımıza uyguladığımız MMSE ve ACE-R testi değerlendirildiğinde, Şekil 11’de gösterildiği gibi genç yaş ve idiyopatik PH arasında kognitif performans açısından anlamlı fark saptanmamıştır.



**Şekil 11:** Genç yaş ve idiyopatik PH'nın kognitif performans açısından karşılaştırılması

Şekil 12’de gösterildiği gibi, GBA mutasyonu saptanan ve saptanmayan hastalar arasında da kognitif performans açısından fark saptanmamıştır.



**Şekil 12:** GBA mutasyonu saptanan ve saptanmayan PH'nın kognitif performans açısından karşılaştırılması

Mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar DBS operasyonu durumlarına göre karşılaştırıldığında (Tablo 23); mutasyon saptanan 11 hastanın 3 (%27,2) tanesi DBS operasyonu geçirmiştir. Bu hastaların operasyon yapıldığı andaki ortalama hastalık yaşları 6,6'dır ( $\pm 2,082$ ). Mutasyon saptanmayan 60 hastanın 23 (%38,3) tanesi DBS operasyonu geçirmiştir ve bu hastaların operasyon yapıldığı andaki ortalama hastalık yaşları 8,5'tir ( $\pm 4,2$ ). 71 hastanın tamamı değerlendirildiğinde DBS operasyonu geçiren hastaların oranı %36,6'dır.

**Tablo 23:** Hastaların DBS takılma oranları ve zamanları

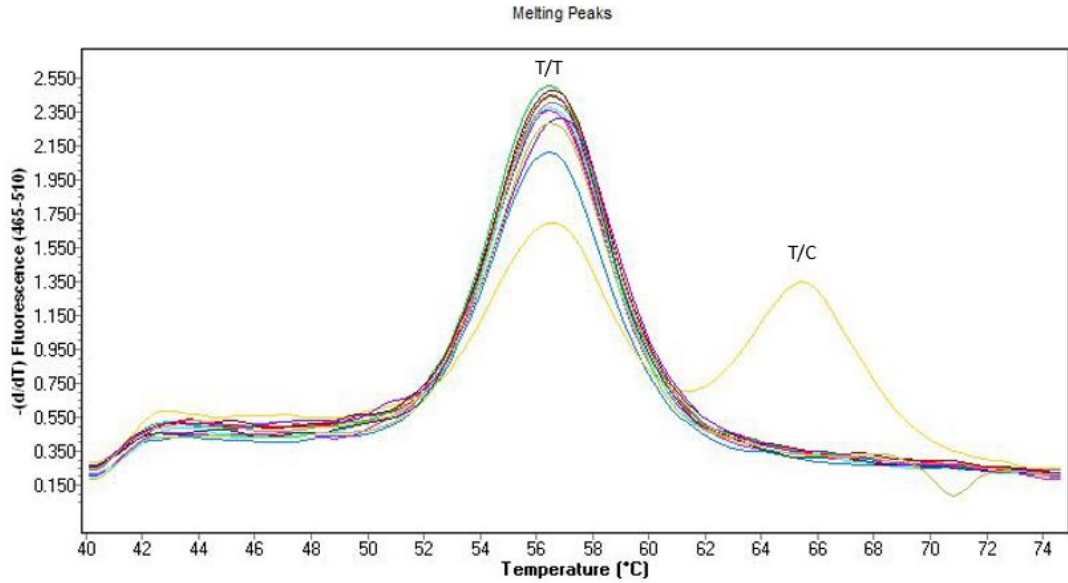
	Mutasyonlu (n=11)	Mutasyonsuz (n=60)	Toplam (n=71)
<b>DBS'li hasta</b>	3 (%27,2)	23 (%38,3)	26 (%36,6)
<b>DBS takıldığındaki hastalık yılı</b> Ortalama $\pm$ Std. Sapma Med (min - maks)	6,6 $\pm$ 2,082 6 (5-9)	8,75 $\pm$ 4,45 8 (2-21)	8,5 $\pm$ 4,2 8 (2-21)
<b>DBS olmayan hasta</b>	8 (%72,7)	37 (%61,7)	45 (%63,3)

## Hasta Ve Kontrol Gruplarının Mutasyon Analizlerinin Sonuçları

Çalışmada GBA genindeki N370S (rs76763715), L444P (rs421016), D409H (rs1064651), 84insGG (rs387906315), IVS2+1 G>A (rs104886460), V394L (rs80356769), IVS10-1 G>A (rs189380051), IVS10-4 C>T (rs755265316), R120W (397515515), V460V (1135675) ve R496H (rs7582236) mutasyonlarının varlığı, hasta ve kontrol gruplarının kan örneklerinden izole edilen DNA örnekleri kullanılarak, gerçek zamanlı PCR analizi ile hedef bölgelerin amplifikasyonu ve ardından erime eğrisi analizi yapılarak değerlendirilmiştir.

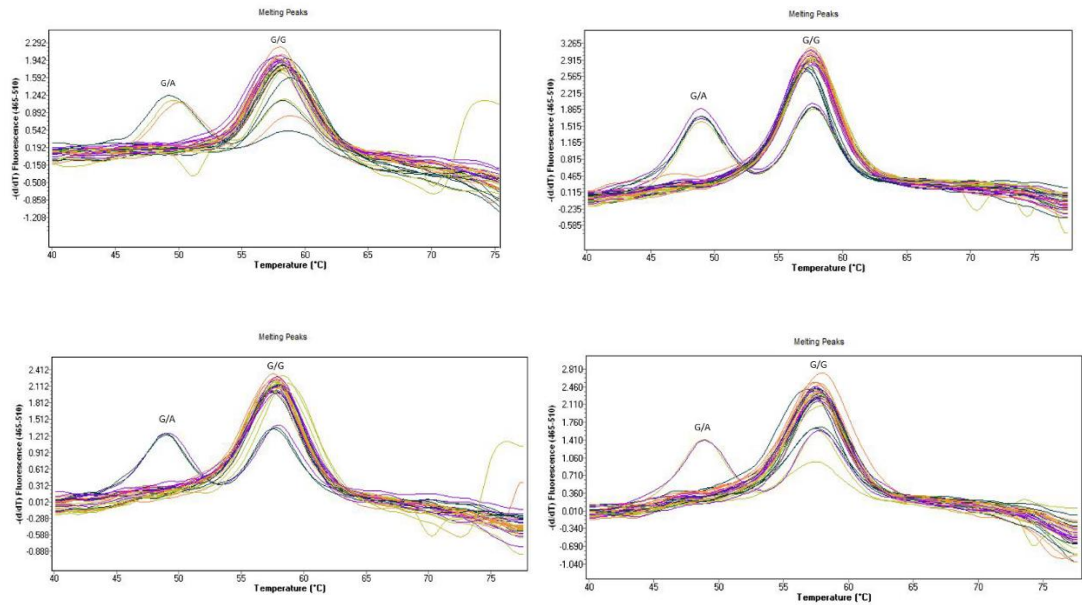
Çalışmada değerlendirilen hasta ve kontrol grubundaki bireylerin hiçbirisinde GBA genindeki N370S (rs76763715), D409H (rs1064651), 84insGG (rs387906315), IVS2+1 G>A (rs104886460), V394L (rs80356769), IVS10-4 C>T (rs755265316), R120W (397515515) ve V460V (1135675) mutasyonları saptanmamıştır.

Yapılan analizler sonucunda GBA genindeki L444P (rs421016) mutasyonu, idiyopatik (ileri yaş) Parkinson hasta grubundan bir bireyde heterozigot olarak saptanmıştır. Hastada saptanan T>C değişimine ait erime eğrisi analizi Şekil 13'te gösterilmektedir. Şekilde de görüldüğü gibi T alleleine ait erime eğrisi yaklaşık 55 °C'de, C alleleine ait erime eğrisi yaklaşık 65 °C'de belirtilmiş olup iki pik oluşturduğundan sonuç heterozigot değişim olarak değerlendirilmiştir.



**Şekil 13:** GBA geni rs421016 (L444P) mutasyonuna ait erime eğrisi analizi (T/C genotipi: heterozigot değişim; T/T genotipi: wild tip).

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubunda GBA genindeki R496H (rs7582236) mutasyonu toplam 13 olguda heterozigot olarak saptanmıştır. Bu mutasyonun saptandığı olguların on tanesi hasta grubunda olup, beş tanesi genç yaş Parkinson, beş tanesi idiyopatik (ileri yaş) Parkinson hasta grubuna aittir. R496H mutasyonu saptanan olguların üç tanesi ise kontrol grubuna aittir. Olgularda saptanan G>A değişimine ait erime eğrisi analizi Şekil 14'te gösterilmektedir. Şekilde de görüldüğü gibi G alleleine ait erime eğrisi yaklaşık 60 °C'de, A alleleine ait erime eğrisi yaklaşık 50 °C'de belirtilmiş olup iki pik oluşturduğundan sonuç heterozigot değişim olarak değerlendirilmiştir.

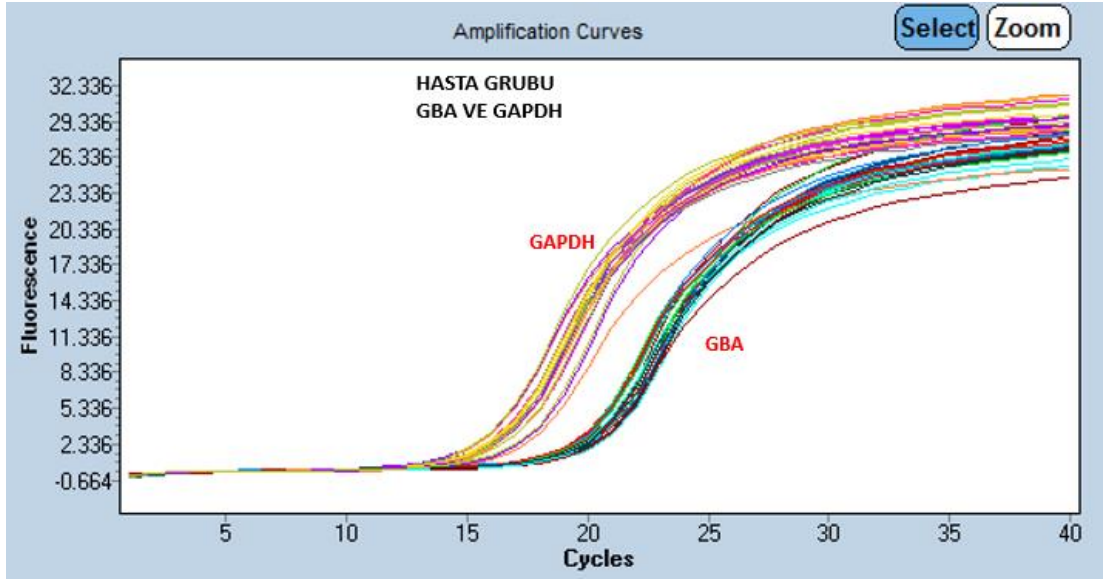


**Şekil 14:** GBA geni rs7582236 (R496H) mutasyonuna ait erime eğrisi analizi (G/A genotipi: heterozigot değişim; G/G genotipi: wild tip).

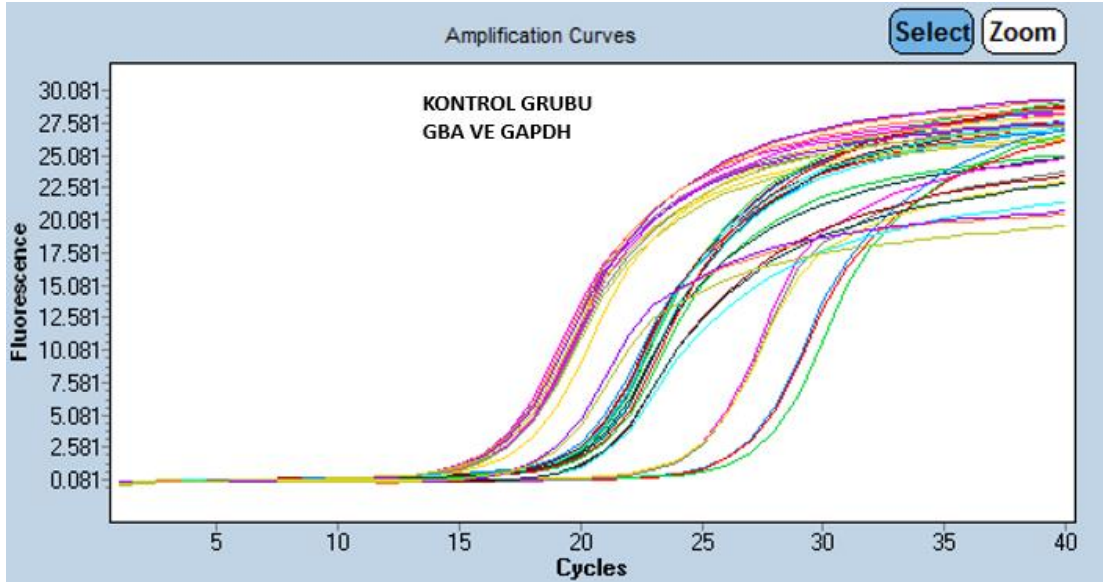
### Hasta Ve Kontrol Gruplarının Ekspresyon Analizlerinin Sonuçları

Mutasyon saptanan hastalardan ve sağlıklı kontrollerden GBA gen ekspresyon analizi için hasta ve kontrollerin periferik kan örneklerinden izole edilen RNA örnekleri kullanılarak cDNA sentezi yapılmış ve LightCycler 480 cihazı kullanılarak gerçek zamanlı kantitatif PCR yöntemi ile ekspresyon düzeyleri test edilmiştir. Ekspresyon analizinde referans gen olarak GAPDH kullanılmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının GBA ve GAPDG genlerine ait amplifikasyon eğrileri Şekil 15

ve Şekil 16'da gösterilmiştir. Şekilde verilen amplifikasyon eğrileri incelendiğinde, hedef ve referans genin hasta ve kontrol grubunda amplifiye olduğu görülmektedir.



Şekil 15: Hasta grubunun hedef gen olan GBA ve referans gen olan GAPDH genlerine ait amplifikasyon eğrileri.

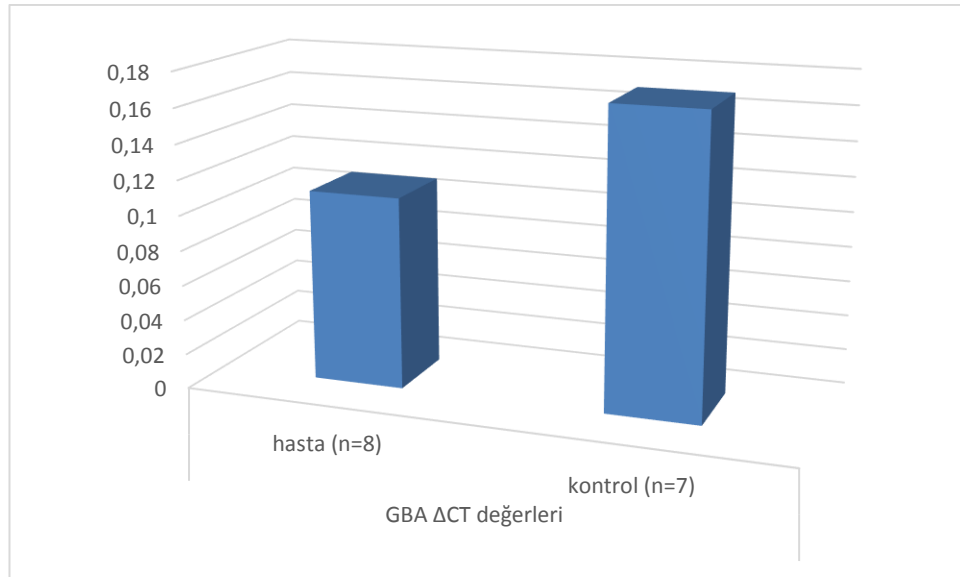


Şekil 16: Kontrol grubunun hedef gen olan GBA ve referans gen olan GAPDH genlerine ait amplifikasyon eğrileri.

Gereç ve yöntemde de belirtildiği gibi ekspresyon analizi sonucunda  $\Delta\Delta C_T$  yöntemi kullanılarak elde edilen sonuçların relatif kantitasyonu yapılmıştır. Hasta ve kontrol grubuna ait her örneğin eşik döngü ( $C_T$ =threshold cycle) değerleri hem hedef gen olan GBA hem de internal kontrol gen olan GAPDH için LightCycler Relatif Kantitasyon Yazılım Programı kullanılarak üçer kez hesaplanmış olup her örneğe ait elde edilen hedef gen ekspresyonu, referans gen olan GAPDH ekspresyonuna göre  $\Delta C_T = C_{T\text{ GBA}} - \Delta C_{T\text{ GAPDH}}$  şeklinde normalize edilmiştir. Hasta ve kontrol grubuna ait GBA  $\Delta C_T$  değerleri Tablo 24’te ve Şekil 17’de belirtilmiştir.

**Tablo 24:** Hasta ve kontrol grubunun GBA  $\Delta C_T$  değerleri

GBA $\Delta C_T$ değerleri (normalize ekspresyon değerleri)		Aritmetik ortalama $\pm$ Standart sapma	Med (min - maks)	p değeri
	hasta (n=8)	0,11 $\pm$ 0,03	0,1 (0,08 - 0,15)	0,04*
kontrol (n=7)	0,17 $\pm$ 0,07	0,14 (0,12 - 0,3)		



**Şekil 17:** Hasta ve kontrol grubunun GBA  $\Delta C_T$  değerlerinin grafikte gösterilmesi

Hasta ve kontrol grubunda *GBA*  $\Delta C_T$  değerlerinin ayrı ayrı aritmetik ortalaması alınmıştır. Hasta grubunun ortalama  $\Delta C_T$  değeri  $0,11 \pm 0,03$  olarak saptanırken kontrol grubunun ortalama  $\Delta C_T$  değeri  $0,17 \pm 0,07$  olarak saptanmıştır. *GBA* mRNA ekspresyon düzeyi açısından hasta ve kontrol grubunun arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,04$ ) (Tablo 24 ve Şekil 14). Mutasyon saptanan 7 hastadan lökosit GCCase enzim düzeylerine bakılmış olup normal olarak bulunmuştur (Tablo 19). Hastaların ortalama enzim düzeyleri Tablo 25'te gösterilmektedir.

**Tablo 25:** Hastaların lökosit glukoserebrosidaz enzim düzeyi ortalamaları

		<b>Aritmetik ortalama ± Standart sapma</b>	<b>Referans değerler</b>
<b>GCCase enzim düzeyleri (nmol/sa/mg)</b>	hasta (n=7)	16,4 ± 2,43	5-13,5 nmol/sa/mg

## TARTIŞMA

Parkinson hastalığı Alzheimer hastalığından sonra ikinci en sık nörodejeneratif hastalıktır. Hastalığın prevalansı 60 yaş üstü popülasyonda %1-2, 85 yaş üstü popülasyonda ise %3.5-5'tir. Hastalık erkeklerde kadınlara göre 1.5 kat daha fazla görülmektedir (E/K=1.5/1) (6). Hastalık başlangıç yaşına göre 50 yaşından önce başladığında erken başlangıçlı PH, 50 yaşından sonra başladığında ise idiyopatik veya ileri yaş başlangıçlı PH olarak isimlendirilmektedir (8).

Hastalığın motor bulguları, substantia nigra (SN) pars kompakta'da yer alan dopaminerjik nöronların kaybına bağlı ortaya çıkmaktadır. Nöronların içinde Lewy cisimciği olarak adlandırılan intraselüler  $\alpha$ -sinüklein birikimleri görülmektedir (17). İstirahat tremoru, bradikinezi, postural instabilite ve rijidite hastalığın kardinal bulgularıdır (18).

PH, çevresel ve genetik nedenlere bağlı multifaktöriyel bir hastalıktır. Genom boyu ilişkilendirme ve bağlantı analizleri sayesinde son zamanlarda PH ile ilgili 18 lokus tanımlanmıştır; PARK1-18 (64). Bunlardan altı tanesi otozomal dominant (PARK1, 4, 3, 5, 8, 11 ve 13), dört tanesi otozomal resesif (PARK2, 6, 7, ve 9) ve bir tanesi X'e bağlı (PARK 12) kalıtım paterni göstermektedir (65). Genetik nedenlere bağlı PH tüm Parkinson hastalarının %10 kadarını oluşturmaktadır (66).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise, PH ve bir lizozomal depo hastalığı olan Gaucher hastalığından sorumlu Glukoserebrozidaz (GBA) geni arasında güçlü bir ilişki tespit edilmiştir (88). Sidransky ve ekibi yaptıkları bir çalışmada, Gaucher hastası olguların ebeveynlerinin ve ikinci derece yakınlarının Parkinson hastası olduğunu ortaya koymuşlardır. Parkinson hastası olan bu aile bireylerine *GBA* mutasyon analizi yaptıklarında bu kişilerin heterozigot *GBA* mutasyonu taşıdığını tespit etmişlerdir (79). Bu durumun ortaya konması üzerine, PH ve *GBA* arasındaki ilişkiyi araştırmak üzere pek çok çalışma yapılmıştır (8, 69, 74, 89). *GBA* heterozigot mutasyonu taşıyan Parkinson hastalarında GCase enzim aktivitesi %40-50 düzeylerinde azaldığından, bu kişilerde Gaucher hastalığı fenotipi görülmemektedir (67).



GBA gen mutasyonları Parkinson hastalığının bilinen en sık genetik nedenidir ve PH tanısı alan olguların, popülasyonlar arasında farklılık göstermekle beraber, yaklaşık %5-10 kadarında görülmektedir (4, 11). Parkinson hastalığında *GBA* mutasyon oranı %10,7-31,3 ile en fazla Ashkenazi Yahudilerinde görülmektedir (68). Bu toplulukta, sağlıklı kişilerde de yaklaşık %3 oranında *GBA* mutasyon taşıyıcılığı görülmektedir. Sağlıklı kontrol grubunda mutasyon saptanma oranı da yine popülasyonlar arasında farklılık göstermektedir (69). *GBA* gen mutasyonu taşıyan kişilerde, PH görülme riski normal topluma göre 5 kat fazladır (78). Bunun yanı sıra, riskin 20 kat arttığını gösteren yayınlar da bulunmaktadır (66).

Glukoserebrozidaz enzimi (GCCase), Saposin C aracılığıyla lizozomlarda aktifleşen bir enzimdir. Bir glikolipit olan glukozilseramidi (GlcSer) glukoz ve seramide katalizlemekle görevlidir (3). *GBA* mutasyonları genellikle yanlış katlanmış GCCase enzimi üretilmesine neden olmakta ve bu hatalı enzim  $\alpha$ -sinüklein agregasyonunun artmasına, lizozomal disfonksiyona veya otofajide bozulmaya neden olarak PH'na yol açmaktadır (11, 68). Mutasyonların diğer bir etkisi de, enzim eksikliğine sebep olarak Parkinson hastalığından sorumlu mekanizmalar olan mitokondriyal disfonksiyona, ER stresine, lipid ve  $\alpha$ -sinüklein akümülyasyonuna yol açmalarıdır (4, 66, 68).

*GBA* ilişkili PH'da görülen en sık mutasyonlar N370S, L444P, D409H, R120W, V394L, 84insGG, IVS2+1 G→A, IVS10-4 C→T, IVS10-1 G>A, V460V ve R496H şeklinde listelenebilir (3, 7, 9, 10).

Bu çalışmada; Parkinson hastalığı tanısı alan 33 genç PH ( $\leq 50$  yaş) ve 38 idiyoPATİK PH ( $> 50$  yaş) olmak üzere 71 Parkinson hastası ve 116 sağlıklı kontrol *GBA* genindeki en sık görülen 11 mutasyon açısından analiz edildi. Mutasyon saptanan bireylerden ve sağlıklı kontrol grubundan lökosit *GBA* gen ekspresyon düzeyi analizi ve mutasyon saptanan hastalardan Glukoserebrozidaz enzim düzeyi analizleri yapıldı. Aynı zamanda hasta grubundan her bireye, hastalığın motor bulgularını değerlendirmeye yönelik UPDRS (Ek 5), non-motor bulguları değerlendirmeye yönelik non-motor anketi (Ek 8), kognitif durum muayenesi için MMSE ve ACE-R kognitif muayene testleri (Ek 7), duygu-durum değerlendirmesi için Hamilton depresyon değerlendirme ölçeği (Ek 6) uygulandı.

Yapılan analizler sonucunda genç yaş hasta grubunda 5 hastada, ileri yaş hasta grubunda 6 hastada *GBA* heterozigot mutasyonu saptandı. Mutasyon saptanma oranı açısından genç yaş ve ileri yaş Parkinson hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Genç yaş ve ileri yaş hasta grubu birlikte ele alındığında toplam 11 (%15,5) hastada, kontrol grubunda ise 3 (%2,6) kişide *GBA* heterozigot mutasyonu saptanmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasındaki bu fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Mutasyon saptanan toplam 14 kişiden 13 tanesinde (10 hasta, 1 kontrol) R496H mutasyonu saptanırken, sadece hasta grubundan 1 kişide L444P mutasyonu saptandı. Mutasyon saptanan genç hastaların hastalık başlangıç yaş ortalaması 42,8 iken, mutasyon saptanan ileri yaş hastaların hastalık başlangıç yaş ortalaması 61,6 olarak bulundu. Mutasyon saptanan 11 hastayı birlikte ele aldığımızda hastalık başlangıç yaş ortalamaları 53 (36-74), mutasyon saptanmayan hastaların hastalık başlangıç yaş ortalamaları 52 (28-76) olarak saptandı. Hastalık başlangıç yaşı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamasına rağmen her iki grubun ortalama hastalık başlangıç yaşlarının birbirine yakın olması dikkat çekmektedir.

Literatür incelendiğinde; Clark ve ark. (8) yaptıkları bir çalışmada, Tayland halkından oluşan 90 genç yaş ve 185 ileri yaş olmak üzere toplam 275 Parkinson hastası ve 179 kontrol hastasında, *GBA* dizi analizi ile mutasyon saptanma oranlarını sırasıyla %13,7 ve %4,5 olarak bulmuşlardır. Hastaların 178 tanesi, kontrollerin ise 85 tanesi Askenazi Yahudilerinden oluşmaktadır. Aynı çalışmada genç yaş hastalarda %22,2 oranında, ileri yaş hasta grubunda ise %9,7 oranında mutasyon saptanmıştır ve en sık saptanan mutasyon N370S mutasyonu olmuştur. Pulkes ve ark. (7) 108 genç yaş ve 372 ileri yaş olmak üzere toplam 480 Parkinson hastası ve 395 kontrol ile yaptıkları bir çalışmada, hasta grubunda *GBA* mutasyon oranını %13, kontrol grubunda ise %0,5 olarak saptamışlardır. En sık saptadıkları mutasyon ise L444P mutasyonudur. Nichols ve ark. (90) karışık etnik yapıdan (<%10 Askenazi Yahudisi) 459 Parkinson hastası ve 359 kontrol ile yaptıkları bir çalışmada, sık görülen 9 *GBA* mutasyonunu taramışlar ve mutasyon oranını hasta grubunda %12,6, kontrol grubunda ise %5,3 olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada en sık saptadıkları mutasyonlar N370S, E326K ve T369M mutasyonlarıdır ve bu mutasyonlar hem hasta hem de kontrol grubunda saptanan mutasyonlardır. Mitsui ve ark. (91) Japonya'da

534 hasta ve 544 kontrol ile yaptıkları bir çalışmada, hasta grubunda *GBA* mutasyon oranını %9,4 saptarken, kontrol grubunda %0,37 olarak saptamışlardır. R120W ve L444P aynı çalışmada en sık saptanan mutasyonlardır. Eblan ve ark. (92) 33 hasta ve 31 kontrol ile yaptıkları bir çalışmada *GBA* mutasyon oranını hastalarda %12, kontrolde ise %3,2 oranında saptamışlardır. Peretz ve ark. (93) Askenazi Yahudilerinden oluşan 99 hasta ve 1543 kontrol grubuyla yaptıkları bir çalışmada hasta grubunda %31,3, kontrol grubunda ise %6,2 oranında mutasyon saptamışlardır. En sık saptadıkları mutasyon N370S mutasyonudur. Lesage ve ark. (94) Avrupa'da 1130 hasta ve 391 sağlıklı kontrolle yaptıkları bir çalışmada hastalarda %6,7, kontrolde ise %1,0 oranında *GBA* mutasyonu saptamışlardır. Aynı çalışmada, mutasyon saptanan hastaların hastalık başlangıç yaş ortalaması  $51,0 \pm 12,7$  iken mutasyon saptanmayan hastaların hastalık başlangıç yaş ortalaması  $50,0 \pm 13,7$  şeklindedir. Ayrıca genç yaş ve ileri yaş hasta grubunda mutasyon saptanma oranı açısından anlamlı fark saptamamışlardır (genç yaş: %6,2 ; ileri yaş: %8,5). En sık saptadıkları mutasyonlar ise N370S ve L444P mutasyonlarıdır. Kalinderi ve ark. (95) Yunanistan'da 172 hasta ve 132 sağlıklı kontrol ile yaptıkları bir çalışmada, *GBA* mutasyon oranını hastalarda %4,7, kontrolde %0,8 olarak saptamışlardır. Saptanan en sık mutasyonlar H255Q ve L444P mutasyonlarıdır.

Bunlar ve benzeri çok sayıda çalışma incelendiğinde; hasta ve kontrol grubunda saptanan mutasyon oranları literatürle uyumludur. Burada ele aldığımız çalışmalardan da anlaşılacağı üzere, toplumlardaki hasta ve sağlıklı kontrollerin mutasyon taşıma oranları farklılık göstermektedir. Türkiye'de daha önce Parkinson hastalarında *GBA* mutasyonları ile ilgili çalışma yapılmamış olduğundan sonuçları Türkiye toplumu açısından değerlendirmek mümkün değildir. Yapılan çalışmalar, erken başlangıçlı Parkinson hastalarında mutasyon saptanma oranının genellikle ileri yaş Parkinson hastalarına göre daha fazla olduğunu göstermektedir. Mutasyon oranını genç ve ileri yaş Parkinson hasta gruplarında benzer bulan çalışmalar da vardır (10, 94). Lesage ve ark. (94) Avrupa'da 681 erken başlangıçlı ve 635 idiyoptaik PH'da yaptıkları bir çalışmada genç yaş hastalarda %6,2, ileri yaş hastalarda %8,5 oranında *GBA* mutasyonu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda her iki grupta yaklaşık eşit oranda mutasyon saptanmıştır (genç yaş mutasyon oranı: %15,1; ileri yaş mutasyon oranı: %15,7). Bu durumda sonucun literatürle uyumlu

olup olmadığı açısından kesin bir şey söylemek mümkün değildir. Genç ve ileri yaş hasta sayılarının daha fazla olduğu yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Srulijes ve ark. (96) yaptıkları bir çalışmada, mutasyon saptanan hastaların ortalama hastalık başlangıç yaşlarını 50 (28-65), mutasyon saptanmayan hastaların ortalama hastalık başlangıç yaşlarını ise 54 (36-62) olarak bulmuşlardır ve hastalık başlangıç yaşları açısından mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında anlamlı fark saptamamışlardır. Lesage ve ark. (94) yaptıkları bir çalışmada, mutasyon saptanan hastaların hastalık başlangıç yaş ortalamasını  $51,0 \pm 12,7$  mutasyon saptanmayan hastaların hastalık başlangıç yaş ortalamasını ise  $50,0 \pm 13,7$  olarak saptamışlardır. Bu oranlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamamışlardır. Bizim çalışmamızda da, mutasyon saptanan ve mutasyon saptanmayan hastaların hastalık başlangıç yaş ortalamaları birbirine benzer bulunmuştur (genç yaş PH ortalama hastalık başlangıç yaş: 53 [36-74], ileri yaş PH ortalama hastalık başlangıç yaş: 52 [28-76]).

Çalışmamızda, genç yaş hastaların Parkinson hastalığı açısından aile öyküsü pozitifliği %42 oranında bulunmuştur. İleri yaş hastalarda ise aile öyküsü pozitifliği %34 oranındadır. Hastaların tamamı değerlendirildiğinde %38 oranında aile öyküsü pozitifliği bulunmaktadır. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Pulkes ve ark. (7) yaptıkları bir çalışmada genç yaş Parkinson hastalarında %14,9, ileri yaş hastalarda %9,4, kontrol hastalarında ise %0,8 aile öyküsü pozitifliği saptamışlardır. Genç ve ileri yaş Parkinson hastaları arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır, fakat, kontrollere göre anlamlı farklılık saptanmıştır.

Çalışmamızda *GBA* mutasyonu saptanan hastaların %36,4 kadarında, mutasyon saptanmayan hastaların da %38,3 kadarında aile öyküsü pozitifliği saptanmıştır. Aile öyküsü pozitifliği açısından mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Salvia ve ark. (10) yaptıkları bir çalışmada, aile öyküsü pozitifliği açısından *GBA* mutasyonu saptanan ve saptanmayan hastalar arasında bizim çalışmamıza benzer sonuçlar bulmuşlardır. Pulkes ve ark. (7) yaptığı çalışmada da aile öyküsü açısından *GBA* mutasyonu saptanan ve saptanmayan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı

fark saptanmamıştır. Oeda ve ark. (89) yaptıkları bir çalışmada *GBA* mutasyonu saptanan hastalarda aile öyküsü pozitifliği %31,6 oranında saptamışlardır. Aynı çalışmada mutasyon saptanmayan hastaların aile öyküsü pozitifliği oranı %11 olarak bulunmuş ve gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Çalışmamızda, cinsiyete göre Parkinson hastalığı görülme sıklığını ele alacak olursak; hastaların %64,7 kadarı erkek, geri kalan %35,3 kadarı da kadınlardan oluşmaktadır. Bu sonuç; literatürde Parkinson hastalığının erkek cinsiyette kadınlara oranla 1.5-2 kat daha sık görüldüğü bilgisiyle uyumludur (4, 6, 69). *GBA* mutasyonu saptanan hastalardaki erkek cinsiyet oranı (%63,6), mutasyon saptanmayan hastalardaki erkek cinsiyet oranı (%65) ile benzer bulunmuştur. Bu nedenle, cinsiyet ve mutasyon saptanma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Neumann ve ark. (81) yaptıkları çalışmada, *GBA* mutasyonu saptanan 33 hastanın %78'i erkek, %21,2'si kadınlardan oluşmaktadır. Hastalık başlangıç yaşına göre de benzer oranlar söz konusudur ve genç yaş hasta grubunda erkek hastaların oranı %66,7,ileri yaş hasta grubunda erkek hastaların oranı %63,2 şeklindedir.

Çalışmamızda, hastaların kognitif performanslarını değerlendirmek için MMSE ve ACE-R kognitif muayene testleri uygulanmıştır. MMSE testinde oryantasyon (10 puan), hafıza (6 puan), konsantrasyon (5 puan), dil (8 puan) ve motor becerilere (1 puan) ait toplam beş bölüm yer almaktadır ve testin toplam skoru 30'dur (37). ACE-R testi ise MMSE testini de kapsayan, toplam 100 puan üzerinden değerlendirilen daha kapsamlı bir testtir. Testte dikkat ve oryantasyon (18 puan), bellek (26 puan), sözel akıcılık (14 puan), dil (26 puan), görsel-mekansal işlevler (16 puan) olmak üzere toplam beş bölüm yer almaktadır. Her iki test için, hastaların eğitim durumlarına göre bazı eşik değerler belirlenmektedir (39). Çalışmamızda hastalara uyguladığımız MMSE ve ACE-R test sonuçlarında, her iki teste göre genç ve ileri yaş hasta gruplarında veya mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında kognitif bozukluk açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Her iki teste göre kognitif bozukluk saptanan Parkinson hastalarının oranı %6,9'dur. MMSE testine göre normal saptanan fakat ACE-R testine göre kognitif bozukluk olarak

değerlendirilen hastaların oranı ise %77,6'dır. Bur farklılık, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Yani, tek başına MMSE testi, kognitif bozukluğu saptamada yetersiz kalmaktadır. Burdick ve ark. (97) yaptıkları bir çalışmada Parkinson hastalarında demans varlığını saptamada MMSE testinin yetersiz olduğuna değinmektedirler.

Çalışmamızda, *GBA* mutasyonu saptanan hastalarda MMSE testine göre %0, ACE-R testine göre ise %90 oranında kognitif bozukluk saptanmıştır. Mutasyon saptanmayan hastalarda ise MMSE testine göre %13,7, ACE-R testine göre de %83,6 oranında kognitif bozukluk saptanmıştır. Kognitif bozukluk açısından mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Alcalay ve ark. (9) erken başlangıçlı 147 Parkinson hastası ile yaptıkları bir çalışmada, MMSE testine göre *GBA* mutasyonu saptanan 33 hastada %42,3, mutasyon saptanmayan 114 hastada ise %15,4 oranında kognitif bozukluk saptamışlardır. Nichols ve ark. (90) ise yaptıkları bir çalışmada *GBA* mutasyonu taşıyan Parkinson hastalarında, mutasyon taşımayan hastalara göre MMSE skorlarında anlamlı bir fark saptamamışlardır. Srulijes ve ark. (96) yaptığı bir çalışmada, ACE-R testine göre, *GBA* mutasyonu saptanan hastalarda mutasyon saptanmayan hastalara göre daha fazla oranda kognitif bozukluk saptanmıştır. Literatürdeki bu çalışmalarda hastaların kognitif durumlarını değerlendirmek için tek bir test yapıldığından bizim çalışmamızın sonuçlarıyla karşılaştırmakta zorluk yaşanmaktadır.

Çalışmamızda, *GBA* mutasyonu taşıyan Parkinson hastalarında mutasyon taşımayanlara göre motor UPDRS, toplam UPDRS, Hamilton depresyon ölçeği ve H&Y skorları açısından anlamlı fark tespit edilmemiştir. Bu sonuçlara benzer şekilde, Nichols ve ark. (90) yaptıkları bir çalışmada, hastaların motor UPDRS, toplam UPDRS, Hamilton depresyon ölçeği ve H&Y skorları açısından anlamlı fark saptamamışlardır. Aynı çalışmada hastaların *GBA* mutasyonu taşıma oranı %12,6 bulunurken kontrollerde bu oran %5,3 şeklinde bulunmuştur. Salvia ve ark. (10) yaptıkları bir çalışmada, çalışmamıza benzer şekilde, *GBA* mutasyonu saptanan ve saptanmayan hastaların motor UPDRS ve H&Y skorları arasında anlamlı fark tespit etmemişlerdir. Sidransky ve ark. (68) yaptıkları çalışmada, PH belirtileri veya klinik progresyonu açısından UPDRS ve H&Y skorlarında *GBA* mutasyonu taşıyan ve

mutasyon taşımayan hastalar arasında anlamlı fark tespit etmemişlerdir. Buna karşın, Pulkes ve ark. (7) yaptıkları çalışmada, *GBA* mutasyonu taşıyan Parkinson hastalarının H&Y skorlarının taşımayanlara göre daha yüksek olduğunu, yani *GBA* mutasyonu saptanan hastalarda hastalık evresinin daha ileride olduğunu saptamışlardır (sırasıyla  $\geq 3$ :%64,  $\geq 3$ :%30). Beavan ve ark. (98) yaptıkları bir çalışmada, depresyon ve motor UPDRS açısından *GBA* mutasyonu taşıyan ve taşımayan hastalar arasında anlamlı fark tespit etmemişlerdir. Hastaların 2 yıllık takibi sonucunda ise, mutasyon saptanan hastaların motor UPDRS skorlarında mutasyon taşımayanlara göre anlamlı derecede artış olduğunu ve depresyon belirtilerinde de anlamlı derecede artış gözlendiğini saptamışlardır.

Gan-Or ve ark. (99) yaptıkları çalışmada depresyon varlığı açısından *GBA* mutasyonu saptanan ve saptanmayan hastalar arasında anlamlı fark saptamamışlardır. Aynı çalışmada dikkat çeken diğer bir bulgu, hastaların çoğunluğunda hastalık başlangıç semptomunun tremor olmasıdır. Bizim çalışmamızda, *GBA* mutasyonu saptanan hastaların tamamının (%100) hastalık başlangıç semptomu tremordur. Bu oran mutasyon taşımayan hastalarda %70'tir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu konuda dikkat çeken nokta şudur; mutasyon saptanan hastaların %100'ünde hastalık başlangıç semptomunun tremor olmasına rağmen, hastaların %81,8'inde tremor baskın hastalık alt tipi gözlenmektedir. Bu durumda, hastalık alt tipi, hastalık başlangıç semptomundan bağımsız olarak hastalığın ilerleyen evrelerinde farklılık gösterebilmektedir.

Neumann ve ark. (81) 790 Parkinson hastasıyla yaptıkları bir çalışmada *GBA* mutasyon taşıyıcılarının genellikle erkek hastalar olduğunu, kognitif bozukluk, ilaçla ilişkili olmayan halüsinasyon gibi bulguların mutasyon taşımayan hastalara göre daha sık olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da mutasyon taşıyan hastalar büyük oranda (%63,6) erkek hastalardır. Bizim çalışmamızda mutasyon taşıyan hastaların hiçbirisinde halüsinasyon saptanmazken, mutasyon saptanmayan hastaların %13,3 kadarında halüsinasyon tespit edilmiştir.

Schapiro ve ark. (66) yaptıkları bir çalışmada, *GBA* mutasyonu saptanan ve saptanmayan hastalar arasında, patolojik veya nörogörüntüleme sonuçları ve L-DOPA tedavisine yanıt açısından anlamlı fark tespit etmemişlerdir. Bizim

çalışmamızda da mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında L-DOPA tedavisine yanıt açısından anlamlı fark tespit edilmedi. Benzer şekilde Richards ve ark. (11) da yaptıkları çalışmada her iki grup arasında L-DOPA tedavisine yanıt açısından anlamlı fark tespit etmemişlerdir.

Sidransky ve ark. (68) yaptıkları bir çalışmada, *GBA* ilişkili Parkinson hastalarının klinik özelliklerini heterozigot veya homozigot mutasyon saptananlarda benzer bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda mutasyon saptanan hastaların tamamı heterozigot mutasyon taşımaktaydılar. Bu nedenle bu konuda bir karşılaştırma yapılamamaktadır.

DBS operasyonu ve *GBA* mutasyonu arasındaki ilişkiye bakacak olursak, çalışmamızda *GBA* mutasyonu saptanan hastaların %27,2, saptanmayanların %38,3 kadarı DBS operasyonu geçirmiştir. Bu açıdan istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. DBS operasyonu geçirdikleri andaki ortalama hastalık yaşına bakacak olursak, *GBA* mutasyonu taşıyan hastalar 6,6 yıl (5-9), mutasyon saptanmayanlar ise ortalama 8,75 yıl (2-21) sonra operasyon geçirmişlerdir. Buradan çıkarabileceğimiz sonuç, *GBA* mutasyonu saptanan hastalar saptanmayanlara göre 2,1 yıl daha erken DBS ihtiyacı hissetmektedirler. Lythe ve ark. (100) yaptıkları çalışmada, *GBA* mutasyonu taşıyan hastaların taşımayanlara göre daha erken hastalık yaşlarında DBS operasyonu geçirdiklerini saptamışlardır. Aynı çalışmada DBS operasyonu geçiren mutasyonlu ve mutasyonsuz hastaları 7,5 yıl takip ettiklerinde, *GBA* mutasyonu taşıyan hastaların kognitif bozukluklarının ve non-motor semptomlarının mutasyon saptanmayanlara göre daha kötü olduğunu saptamışlardır. Bunun sonucunda, *GBA* mutasyonu taşıyan hastalarda hastalığın daha progresif olduğunu öne sürmüşlerdir. Pal ve ark. (101) DBS operasyonu geçirmiş ve geçirmemiş hastalarda *GBA*, *LRRK2* ve *PRKN* gen mutasyonlarını taradıkları bir çalışmada, DBS operasyonu geçirmiş olan hastalarda mutasyon oranının daha yüksek olduğunu ve bu mutasyonların çoğunlukla *GBA* geninde olduğunu saptamışlardır.

Gaucher hastalığı açısından otozomal resesif kalıtım paternine sahip olan *GBA* mutasyonları, Parkinson hastalığı açısından ise, yaşa bağlı inkomplet penetrans gösteren otozomal dominant kalıtım paternine sahiptir (7, 8). Bunun yanında mutasyon saptanan Parkinson hastalarının sağlıklı aile bireylerine yapılan



analizlerde, hasta kişiyle aynı mutasyonu taşıyan aile bireylerinin takiplerinde sadece %10-30 kadarında Parkinson hastalığı geliştiği, büyük çoğunluğunda ise aynı mutasyonu taşımalarına rağmen takiplerinde Parkinson hastalığı gelişmediği görülmüştür (2). Yani, *GBA* mutasyonu taşıyıcılığı, Parkinson hastalığı açısından bir risk oluşturmakla ve hastalık gelişimini mutasyon taşımayanlara oranla 5 kat arttırmakla beraber, hastalık gelişmesinden sorumlu tek faktör olmamaktadır. *GBA* mutasyonuna eşlik eden başka genetik modifikasyonlar ve çevresel faktörler de hastalık gelişiminde etkilidirler (78, 99). Longitudinal ikiz çalışmaları Parkinson hastalığının genetik faktörlere bağlı olduğunu destekler nitelikte iken, kesitsel (*cross-sectional*) ikiz çalışmaları, kalıtımın bu etkisine karşı durmaktadırlar (102). Sonuç olarak, Parkinson hastalarının aile bireylerinde %10-30 kadarında parkinsonizm semptomlarının görülmesine rağmen, ailesel agregasyon genellikle ortak bir çevreye maruz kalma ile ilişkilendirilmiştir (103). İkiz çalışmaları, hastalıkların genetik etiyolojilerini araştırmak için önemlidir. Parkinson hastalığı, homojen penetrans gösteren bir hastalık değildir. Aynı genetik mutasyona sahip Parkinson hastalığı tanımlı aile bireylerinde bile, hastalık başlangıç yaşı, semptomlarının şiddeti ve seyri farklılık gösterebilmektedir (2).

*GBA* mutasyon tiplerine baktığımızda, literatürde en sık saptanan mutasyonlar L444P ve N370S mutasyonlarıdır. Bu mutasyonlar daha çok Askenazi Yahudilerinde saptanmaktadır (9-11, 69, 81, 98). Toplumlara göre sık görülen mutasyon tipleri de değişmektedir. Örneğin, Kalinderi ve ark. (95) Yunanistan'da yaptıkları bir çalışmada L444P'den sonra en sık saptadıkları *GBA* mutasyonu H255Q mutasyonudur. Bras ve ark. (104) Portekiz'de yaptıkları bir çalışmada *GBA* geninde en sık saptanan mutasyonlar L444P ve N396T mutasyonlarıdır. Kore toplumunda ise en sık L444P ve R257Q mutasyonları saptanmıştır (105). R496H mutasyonu Doğu Asya popülasyonunda sık görülen bir mutasyon iken, Tayland'da yapılan bir çalışmada bu mutasyona hiç rastlanmamıştır (7). *GBA* geninde saptanan mutasyonların hepsi aynı fenotipik etkiyi meydana getirmemektedirler. Saptanan mutasyonun tipine göre, hastalık kliniğinde ve şiddetinde farklılıklar görülebilmektedir. Örneğin; N370S ve R496H mutasyonları hafif kliniğe sebep olan mutasyonlar iken, L444P, IVS2+1 G>A, V394L ve 84insGG mutasyonları ağır fenotipe neden olan mutasyonlardır (99).

Bizim çalışmamızda da L444P ve R496H mutasyonları saptanmıştır. Mutasyon saptanan 11 (%15,5) hastadan sadece 1 tanesinde heterozigot L444P mutasyonu saptanırken, geriye kalan 10 hastada ve 3 kontrolde R496H heterozigot mutasyonu saptanmıştır. GCCase enziminin immunglobulin benzeri domaini olan domin II'de, hidrofobik bölümde yer alan L444P mutasyonunda, matür proteinde 444. pozisyondaki Lösin aminoasiti yerine Prolin aminoasiti kodlanmaktadır. Bu değişim, hidrofobik kor bölgesine zarar vererek alternatif kırılma (*splice*) bölgesi oluşturmakta ve bu bölgenin yanlış kırılmasına neden olmaktadır (106). Bu durum muhtemelen protein yapısını değiştirerek protein stabilitesini bozmakta ve düşük aktivitede bir enzim sentezlenmesine neden olmaktadır (8). Sentezlenen bu düşük aktiviteye sahip enzim muhtemelen mitokondriyal disfonksiyona, ER stresine, lipit ve  $\alpha$ -sinüklein akümülyasyonuna neden olarak hastalık patogeneğinde rol oynamaktadır (4, 66, 68). L444P mutasyonu ağır fenotipe neden olan bir mutasyondur (99).

R496H mutasyonu da GCCase enziminin immunoglobulin benzeri domaininde yer alır. Enzimin aktif bölgesine uzaktır (106). R496H mutasyonunda, matür proteinde 496. pozisyondaki Arginin yerine Histidin aminoasiti kodlanmaktadır. Bu pozisyon aynı zamanda, stop kodonundan bir önceki amino asit pozisyonudur. Arginin, pozitif yüklü bazik, hidrofilik bir proteindir. Histidin de pozitif yüklü bazik bir proteindir. Arginine göre hidrofilik özelliği biraz daha düşüktür. Arginin-Histidin değişimi hastalık patojenitesi açısından orta düzeyde risk oluşturmaktadır. Bu değişim, muhtemelen glukoserebrozidaz enziminde konformasyonel değişikliğe sebep olarak, enzimin katalitik aktivitesinde azalmaya sebep olmaktadır (8). R496H mutasyonu hafif kliniğe sebep olan bir mutasyondur (99).

Neumann ve ark. (81) ve Gan-Or ve ark. (107) hafif ve orta düzey etkiye sahip mutasyon taşıyan Parkinson hastalarının ağır etkili mutasyon taşıyanlara göre hastalık başlangıç yaşlarının daha ileri olduğunu ve kognitif bozukluk, demans gibi bulguların daha az görüldüğünü öne sürmektedirler.

R496H mutasyonu çalışmamızda 116 kişilik kontrol grubundan 3 (%2,6) kişide heterozigot formda saptanmıştır. Mutasyon saptanan 3 sağlıklı kontrolün yaşları sırasıyla 32, 38 ve 41'dir (ort.=37). Bu kişilerin kendilerinde veya birinci

derece akrabalarında Parkinson hastalığı öyküsü mevcut değildir. Bu durum, *GBA* gen mutasyonlarının bu kişilerde azalmış penetransa sahip olması, hastalık gelişimi açısından mutasyon varlığına eşlik eden çevresel faktörlerin olmaması veya kişilerin henüz genç yaşlarda olması gibi olası mekanizmalarla açıklanabilmektedir. Bu kişiler, yaşamlarının ileri evrelerinde parkinsonizm belirtileri pozitifliği açısından takip edilebilir ve sonuçlarına göre olası mekanizmalar üzerinde tekrar durulabilir.

Mutasyon saptanan 8 hastadan ve sağlıklı kontrol grubundan (7 kişi) yapılan lökosit *GBA* ekspresyon analizinde, hastaların *GBA* ekspresyon düzeylerinde kontrole göre anlamlı azalma tespit edildi. Ayrıca, mutasyon saptanan hastaların 7 tanesinden (6 R496H, 1 L444P) lökosit GCCase enzim düzeyi analizi çalışması sonucunda, 7 hastanın tamamında normal enzim düzeyleri saptandı. Chiasserini ve ark. (108) *GBA* mutasyonu taşıyan ve taşımayan Parkinson hastalarının değişik beyin bölgelerinden (frontal korteks, kaudat, hipokampus, substantia nigra, serebellum) yaptıkları *GBA* ekspresyon analizinde, başta substantia nigra olmak üzere bakılan beyin bölgelerinde *GBA* ekspresyonunun kontrole göre anlamlı ölçüde azaldığını saptamışlardır. Aynı çalışmada, aynı beyin bölgelerinden ve serebrospinal sıvıdan lizozomal enzim (GCCase,  $\beta$ -galaktozidaz, kathepsin E,  $\beta$ -mannozidaz,  $\beta$ -heksoaminidaz,  $\alpha$ -mannozidaz,  $\alpha$ -fukosidaz) düzeyi analizi yapılmıştır. Enzim düzeyi sonuçlarında, bakılan enzimlerden sadece GCCase enziminde kontrollere göre anlamlı düşüklük saptamışlardır. GCCase enzimindeki bu düşüklük sadece serebrospinal sıvıda, substantia nigrada ve kaudatta saptanırken, diğer beyin bölgelerinde enzim düzeyleri normal saptanmıştır. Bu durumda, *GBA* mutasyonu taşıyan Parkinson hastalarında, GCCase enzim eksikliğinin, substantia nigraya özgü bir bulgu olduğu yorumunu yapmışlardır. Ortega ve ark. (109) yaptıkları bir çalışmada, homozigot *GBA* mutasyonu (N370S/N370S, N370S/R496H, N370S/A456P) taşıyan PH (Gaucher + PH), heterozigot *GBA* mutasyonu (N370S, R496H, 84insGG, E326K) taşıyan PH, *GBA* mutasyonu taşımayan PH ve *GBA* mutasyonu (N370S, R496H, 84insGG, E326K) taşıdığı halde PH bulunmayan hastalardan lökosit GCCase enzim düzeyi analizi yapmışlardır. Analiz sonucunda, lökosit GCCase düzeylerini homozigot *GBA* mutasyonu taşıyan PH'da heterozigot mutasyon taşıyanlara göre, heterozigot mutasyon taşıyanlarda da mutasyon taşımayan PH ve asemptomatik taşıyıcılara göre daha düşük saptamışlardır. Gegg ve ark. (77) bir çalışmada, *GBA* mutasyonu taşıyan

ve taşımayan Parkinson hastalarında beynin serebellum, frontal korteks, putamen, amigdala ve substantia nigra bölgelerinde GCCase enzim aktivitesine ve *GBA* mRNA ekspresyonuna bakmışlardır. Mutasyon taşıyan hastalarda en düşük GCCase enzim düzeyleri SN (%58) ve putamende (%48) saptanmıştır. SN'da *GBA* mRNA ekspresyonunda da anlamlı düşüklük saptanırken, putamende *GBA* ekspresyon seviyeleri normal saptanmıştır. Putamende *GBA* ekspresyonu normal iken, GCCase enzim seviyelerindeki belirgin düşüklüğün, post-translasyonel modifikasyonlara bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir. Aynı çalışmada *GBA* mutasyonu taşımayan Parkinson hastalarının da SN (%33) ve putamen (%24) gibi beyin bölümlerinde GCCase enzim düzeylerinde belirgin düşüklük saptanmıştır. Mutasyon saptanmayan hastalardaki bu GCCase düşüklüğüne, PH patogenezinden sorumlu olan mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres veya  $\alpha$ -sinüklein seviyelerindeki artışın sebep olabileceğini düşünmektedirler. Bunun sonucunda, Parkinson hastalığı patolojisinin *GBA* mutasyonlarının varlığıyla şiddetlendiği ve hızlandığı, fakat mutasyon varlığında bu patogenez sürecinin illaki başlamadığını öne sürmektedirler. Tüm *GBA* mutasyon taşıyıcılarında PH gelişmemesini de bu mekanizma ile açıklamaktadırlar. Yine aynı çalışmada,  $\alpha$ -sinüklein artışının GCCase düzeyleri üzerindeki etkisini araştırmak için, normal düzeyde  $\alpha$ -sinüklein eksprese eden ve 10 kat daha az  $\alpha$ -sinüklein eksprese eden iki ayrı insan nöroblastom hücre dizisi kullanmışlardır. Artmış  $\alpha$ -sinüklein seviyelerinde, GCCase enziminin intrasellüler trafiğinde bozulma olduğunu saptamışlardır. Tedavide hedef molekül düşüncesiyle hücre dizilerine kompleks I inhibitörü rotenon, glutasyon sentez inhibitörü L-BSO veya reaktif oksijen paraquat ile 48 saat muamele sonrasında GCCase enzim seviyelerinde herhangi bir değişiklik saptamamışlardır.

McNeill ve ark. (110) Gaucher hastası, Parkinson hastalığı olan ve olmayan 6 *GBA* heterozigot mutasyon taşıyıcısının cilt fibroblast kültürlerinden yaptıkları bir çalışmada, her üç grupta da GCCase enzim düzeylerinin ve protein seviyelerinin düştüğünü saptamışlardır. Ayrıca, dihidroetidyum oksidasyon seviyesini ölçerek, sitozolik reaktif oksijen radikallerini, dolayısıyla oksidatif stres varlığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada hücre kültürlerine bir moleküler şaperon olan Ambroxol hidroklorid muamelesi sonrasında, her üç grupta da fibroblast GCCase enzim aktivitesinde artış ve dihidroetidyum oksidasyon seviyelerinde azalma tespit

etmişlerdir. Bu sonuçlar, *GBA* mutasyonlarının neden olduğu oksidatif stresin önlenmesi ve GCCase enzim aktivitesinin artırılması, dolayısıyla Parkinson hastalığı tedavisi için Ambroxol'ü, üzerinde araştırma yapılması gereken yeni bir hedef molekül haline getirmiştir.

Meivar-Levy ve ark. (76) Gaucher hastaları ile yaptıkları bir çalışmada, Gaucher hastalarının ve sağlıklı kontrol grubunun deri fibroblast kültürlerinden GCCase enzim düzeyi analizi yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda, Gaucher hastalarının fibroblast GCCase enzim düzeyleri kontrol fibroblastlarla karşılaştırıldığında anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Aynı çalışmada *GBA* geninde saptanan mutasyon tipine göre de enzim düzeyindeki düşüklükte farklılık tespit edilmiştir. L444P mutasyonu taşıyan hastaların (tip III Gaucher) GCCase enzim düzeylerini, N370S mutasyonu taşıyan (tip I Gaucher) hastalardan daha düşük bulmuşlardır.

Gaucher hastalığının tedavisinde iki yöntem mevcuttur; sıklıkla kullanılan ve hastalığının visseral ve hematolojik bulgularının tedavisinde olumlu sonuçlar elde edilen rekombinant glukoserebrozidaz enzim replasman tedavisi, kan-beyin bariyerini geçemediğinden Gaucher hastalığının nörolojik tutulumunu ve Parkinson hastalığının semptomlarını giderememektedir. Diğer daha az kullanılan yöntem ise, substrat redüksiyon terapisi. Bu yöntemde bir iminoşeker inhibitör olan miglustat ile glukozilseramid sentezinin azaltılması hedeflenmektedir. Bu yöntem, Gaucher hastalığı ve Parkinson hastalığı birlikteliği olan iki hastada denenmiş fakat parkinsonizm belirtilerinin düzelmesine ve ilerleyişinin durmasına katkısı olmamıştır (111).

$\alpha$ -sinüklein, GCCase enzim aktivitesini engellemektedir. Saposin C, GCCase'ın aktifleşmesi için gerekli bir kofaktördür. Yap ve ark. (82) yaptıkları çalışmada, saposin C'nin  $\alpha$ -sinüklein ile yer değiştirerek GCCase'ı  $\alpha$ -sinüklein inhibisyonundan koruduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçlar, saposin C'nin *GBA* ilişkili PH tedavisi için hedef molekül olabileceğini göstermektedir (82, 83).

*GBA* geni ve Parkinson hastalığı arasındaki ilişkiye yönelik yeni çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. Bu ilişkinin açığa kavuşturulması, *GBA*'nın PH

patogenezindeki yerinin belirlenmesi ve bunlara yönelik yeni hedef moleküller belirlenmesi açısından bu konuda yapılacak yeni çalışmalar oldukça önemlidir. Gelecekte Parkinson hastalığının bu mekanizmalar üzerinden tedavi edilebilmesi fikri, araştışıcıları daha fazla çalışma yapmaya yöneltmektedir. Parkinson hastalarında GBA gen mutasyon taşıyıcılığının araştırılması, tüm bu çalışmalara destek olmak açısından son derece önemlidir.

## SONUÇLAR

- ✓ Çalışmamızda GBA gen mutasyon taşıyıcılığı Parkinson hasta grubunda (%15,5) sağlıklı kontrol grubuna (%2,6) göre, **anlamli oranda** fazla bulunmuştur ( $p=0,001$ ). Bu sonuç, GBA'nın Parkinson hastalığı etiolojisinde yer aldığını gösteren literatür bilgisi ile **uyumludur**.
- ✓ GBA geninde sık görülen 11 mutasyonun analizi sonucunda, toplam 11 hastada ve 3 sağlıklı kontrolde mutasyon tespit edilmiştir. 10 hastada (5 genç yaş, 5 ileri yaş PH) **R496H mutasyonu** saptanırken, sadece ileri yaş PH grubundan 1 hastada **L444P mutasyonu** saptanmıştır. Klinik açıdan L444P mutasyonu taşıyan hasta, diğer mutasyon taşıyan hastalardan belirgin fark göstermemektedir.
- ✓ Sağlıklı kontrol grubundan 3 kişide saptanan mutasyon R496H mutasyonudur ve bu 3 kişinin yaş ortalaması 37'dir.
- ✓ Çalışmamızın başında erken ve idiyopatik (ileri yaş) hastalar arasında, literatür de göz önünde bulundurulduğunda, genç yaş grubunda GBA mutasyon oranını daha fazla beklemekteydik. Sonuçlara baktığımızda ise, genç yaş ve ileri yaş Parkinson hasta grupları arasında mutasyon taşıyıcılığı açısından anlamlı fark tespit edilmemiştir.
- ✓ Mutasyon saptanan hastaların lökosit GBA mRNA ekspresyonlarının sağlıklı kontrole göre **anlamli derecede** düşmüş olması ( $p=0,04$ ), GBA mutasyonlarının genin ekspresyonunda azalmaya neden olduğunun bir göstergesidir. Bu sonuç da literatürdeki benzer çalışmalarla **uyumlu** bulunmuştur.
- ✓ Mutasyon saptanan hastalarda aynı zamanda lökosit GCCase enzim düzeyi analizi yapıldı ve sonuçlar normal olarak saptandı. Mutasyon saptanan hastalardaki azalmış lökosit GBA mRNA ekspresyonuna karşın, lökosit GCCase enzim düzeylerinin normal saptanması, post-translasyonel düzenlemelerin de enzim düzeylerinde etkili olabileceğini akla getirmektedir.
- ✓ Hasta grubumuzun cinsiyet dağılımına baktığımızda, erkek hasta sayısı kadın hasta sayısının 2 katı kadardır. Mutasyon saptanan hastalarda da erkek hastaların çoğunlukta olması dikkat çekmektedir. Parkinson hastalığının

erkeklerde daha sık görüldüğü göz önüne alınırsa, bu sonuç **literatürle uyumludur.**

- ✓ Hastalara uyguladığımız ölçekler ve testler sonucunda, mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında hastalık kliniği açısından anlamlı fark tespit edilmedi.
- ✓ Mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında aile öyküsü pozitifliği açısından benzer oranlar tespit edildi.
- ✓ Hastalara kognitif durum muayenesi için iki farklı test uygulandı. Test sonuçlarına göre mutasyon saptanma durumuna göre kognitif performans açısından hastalar arasında anlamlı fark saptanmadı. Fakat, testler sonucunda dikkat çeken farklı bir bulgu saptandı. **MMSE testi kognitif bozukluğu saptamada ACE-R testine göre yetersiz kalmaktadır** ( $p=0,000$ ).
- ✓ Hastalar DBS operasyonu öyküsü açısından karşılaştırıldığında, mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasında DBS ihtiyacı açısından anlamlı fark saptanmadı. Fakat genç ve ileri yaş hastalar ele alındığında, genç yaş hastalar ileri yaş hastalara göre ortalama 2,2 hastalık yılı daha önce DBS operasyonu geçirmişlerdir. Bu sonuç, genç başlangıçlı Parkinson hastalarının idiyopatik Parkinson hastalarına göre daha erken DBS operasyonuna ihtiyaç duymaktadırlar şeklinde yorumlanabilir.
- ✓ Bizim çalışmamız, Parkinson hastalığı ve GBA geni arasındaki ilişkiyi açıklamaya yönelik **ülkemizde yapılan ilk çalışmadır.** Bu nedenle Türkiye’de PH ve GBA geniyle ilgili yapılacak araştırmalara referans olacak bir çalışmadır. Türkiye’de yapılan ilk ve tek çalışma olmasından dolayı sonuçları ve mutasyon frekansını Türkiye toplumuyla karşılaştırmak mümkün değildir.
- ✓ Genç ve idiyopatik Parkinson hastalığı etiolojisinde *GBA*’nın yerini anlayabilmek için, hasta sayısının daha fazla olduğu yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



## KAYNAKLAR

1. Shulman JM, De Jager PL, Feany MB. Parkinson's disease: genetics and pathogenesis. *Annu Rev Pathol.* 2011;6:193-222.
2. Farrer MJ. *G Nat Rev Genet.* 2006;7(4):306-18.
3. Deng H, Xiu X, Jankovic J. Genetic convergence of Parkinson's disease and lysosomal storage disorders. *Mol Neurobiol.* 2015;51(3):1554-68.
4. Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. *The Lancet.* 2015;386(9996):896-912.
5. Elbaz A, Bower JH, Peterson BJ, Maraganore DM, McDonnell SK, Ahlskog JE, et al. Survival study of Parkinson disease in Olmsted county, Minnesota. *Archives of Neurology.* 2003;60(1):91-6.
6. Rizek P, Niraj Kumar MD D, Jog MS. An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease. *Canadian Medical Association Journal.* 2016;188(16):1157.
7. Pulkes T, Choubtum L, Chitphuk S, Thakkestian A, Pongpakdee S, Kulkantrakorn K, et al. Glucocerebrosidase mutations in Thai patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2014;20(9):986-91.
8. Clark L, Ross B, Wang Y, Mejia-Santana H, Harris J, Louis E, et al. Mutations in the glucocerebrosidase gene are associated with early-onset Parkinson disease. *Neurology.* 2007;69(12):1270-7.
9. Alcalay R, Caccappolo E, Mejia-Santana H, Tang M-X, Rosado L, Reilly MO, et al. Cognitive performance of GBA mutation carriers with early-onset PD The CORE-PD study. *Neurology.* 2012;78(18):1434-40.
10. Seto-Salvia N, Pagonabarraga J, Houlden H, Pascual-Sedano B, Dols-Icardo O, Tucci A, et al. Glucocerebrosidase mutations confer a greater risk of dementia during Parkinson's disease course. *Mov Disord.* 2012;27(3):393-9.

11. Migdalska-Richards A, Schapira AH. The relationship between glucocerebrosidase mutations and Parkinson disease. *J Neurochem.* 2016;139 Suppl 1:77-90.
12. Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008;79(4):368-76.
13. Bjorklund A, Dunnett SB. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci.* 2007;30(5):194-202.
14. Birkmayer W, Hornykiewicz O. Der L-Dioxyphenylalanin (= L-DOPA)-Effekt beim Parkinson-Syndrom des Menschen: Zur Pathogenese und Behandlung der Parkinson-Akinese. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience.* 1962;203(5):560-74.
15. de Lau LML, Breteler MMB. Epidemiology of Parkinson's disease. *The Lancet Neurology.* 2006;5(6):525-35.
16. Ferguson LW, Rajput AH, Rajput A. Early-onset vs. Late-onset Parkinson's disease: A Clinical-pathological Study. *Can J Neurol Sci.* 2016;43(1):113-9.
17. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkman J, et al. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17013.
18. Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2015;30(12):1591-601.
19. Kollensperger M, Geser F, Seppi K, Stampfer-Kountchev M, Sawires M, Scherfler C, et al. Red flags for multiple system atrophy. *Mov Disord.* 2008;23(8):1093-9.
20. Schilder JC, Overmars SS, Marinus J, van Hilten JJ, Koehler PJ. The terminology of akinesia, bradykinesia and hypokinesia: Past, present and future. *Parkinsonism Relat Disord.* 2017;37:27-35.

21. Berardelli A, Rothwell J, Thompson P, Hallett M. Pathophysiology of bradykinesia in Parkinson's disease. *Brain*. 2001;124(11):2131-46.
22. Ryu DW, Lee SH, Oh YS, An JY, Park JW, Song IU, et al. Clinical Characteristics of Parkinson's Disease Developed from Essential Tremor. *J Parkinsons Dis*. 2017;7(2):369-76.
23. Algarni M, Fasano A. The overlap between Essential tremor and Parkinson disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2018;46 Suppl 1:S101-S4.
24. Bloem B. Postural instability in Parkinson's disease. *Clinical neurology and neurosurgery*. 1992;94:41-5.
25. Marras C, Lang A. Parkinson's disease subtypes: lost in translation? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013;84(4):409-15.
26. Helmich RC, Hallett M, Deuschl G, Toni I, Bloem BR. Cerebral causes and consequences of parkinsonian resting tremor: a tale of two circuits? *Brain*. 2012;135(Pt 11):3206-26.
27. Lim SY, Lang AE. The nonmotor symptoms of Parkinson's disease--an overview. *Mov Disord*. 2010;25 Suppl 1:S123-30.
28. Martinez-Martin P, Rodriguez-Blazquez C, Kurtis MM, Chaudhuri KR, Group NV. The impact of non-motor symptoms on health-related quality of life of patients with Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2011;26(3):399-406.
29. Sakakibara R, Kishi M, Ogawa E, Tateno F, Uchiyama T, Yamamoto T, et al. Bladder, bowel, and sexual dysfunction in Parkinson's disease. *Parkinsons Dis*. 2011;2011:924605.
30. Hely MA, Morris JG, Reid WG, Trafficante R. Sydney Multicenter Study of Parkinson's disease: non-L-dopa-responsive problems dominate at 15 years. *Mov Disord*. 2005;20(2):190-9.

31. Ramaker C, Marinus J, Stiggelbout AM, Van Hilten BJ. Systematic evaluation of rating scales for impairment and disability in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2002;17(5):867-76.
32. Goetz CG, Fahn S, Martinez-Martin P, Poewe W, Sampaio C, Stebbins GT, et al. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Process, format, and clinimetric testing plan. *Mov Disord.* 2007;22(1):41-7.
33. Ebersbach G, Baas H, Csoti I, Mungersdorf M, Deuschl G. Scales in Parkinson's disease. *J Neurol.* 2006;253 Suppl 4:IV32-5.
34. Goetz CG, Poewe W, Rascol O, Sampaio C, Stebbins GT, Counsell C, et al. Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr staging scale: status and recommendations. *Mov Disord.* 2004;19(9):1020-8.
35. Martinez-Martin P, Schapira AH, Stocchi F, Sethi K, Odin P, MacPhee G, et al. Prevalence of nonmotor symptoms in Parkinson's disease in an international setting; study using nonmotor symptoms questionnaire in 545 patients. *Mov Disord.* 2007;22(11):1623-9.
36. Barone P, Antonini A, Colosimo C, Marconi R, Morgante L, Avarello TP, 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):1641-9.
37. MaviŞ İ, ÖZbabalik Adapinar BD, Yenİlmez Ç, Aydın A, Olgun E, Bal C. Test your memory-Turkish version (TYM-TR): reliability and validity study of a cognitive screening test. *Turkish Journal of Medical Sciences.* 2015;45:1178-85.
38. Keskinoglu P, Ucku R, Yener G, Yaka E, Kurt P, Tunca Z. Reliability and validity of revised Turkish version of Mini Mental State Examination (rMMSE-T) in community-dwelling educated and uneducated elderly. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2009;24(11):1242-50.
39. Sobreira E, Pena-Pereira MA, Eckeli AL, Sobreira-Neto MA, Chagas MH, Foss MP, et al. Screening of cognitive impairment in patients with Parkinson's

disease: diagnostic validity of the Brazilian versions of the Montreal Cognitive Assessment and the Addenbrooke's Cognitive Examination-Revised. *Arq Neuropsiquiatr.* 2015;73(11):929-33.

40. Mioshi E, Dawson K, Mitchell J, Arnold R, Hodges JR. The Addenbrooke's Cognitive Examination Revised (ACE-R): a brief cognitive test battery for dementia screening. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2006;21(11):1078-85.

41. Nieto A, Galtier I, Hernandez E, Velasco P, Barroso J. Addenbrooke's Cognitive Examination-Revised: Effects of Education and Age. Normative Data for the Spanish Speaking Population. *Arch Clin Neuropsychol.* 2016.

42. Berankova D, Janousova E, Mrackova M, Eliasova I, Kostalova M, Skutilova S, et al. Addenbrooke's Cognitive Examination and Individual Domain Cut-Off Scores for Discriminating between Different Cognitive Subtypes of Parkinson's Disease. *Parkinsons Dis.* 2015;2015:579417.

43. Galvan A, Wichmann T. Pathophysiology of parkinsonism. *Clin Neurophysiol.* 2008;119(7):1459-74.

44. Leisman G, Braun-Benjamin O, Melillo R. Cognitive-motor interactions of the basal ganglia in development. *Front Syst Neurosci.* 2014;8:16.

45. Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Benitez-Temino B, Blesa FJ, Guridi J, Marin C, et al. Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2008;23 Suppl 3:S548-59.

46. Moss J, Bolam JP. A dopaminergic axon lattice in the striatum and its relationship with cortical and thalamic terminals. *J Neurosci.* 2008;28(44):11221-30.

47. Rodriguez-Oroz MC, Jahanshahi M, Krack P, Litvan I, Macias R, Bezard E, et al. Initial clinical manifestations of Parkinson's disease: features and pathophysiological mechanisms. *The Lancet Neurology.* 2009;8(12):1128-39.

48. Rosin B, Nevet A, Elias S, Rivlin-Etzion M, Israel Z, Bergman H. Physiology and pathophysiology of the basal ganglia—thalamo—cortical networks. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2007;13:S437-S9.
49. Jahanshahi M, Jones CR, Dirnberger G, Frith CD. The substantia nigra pars compacta and temporal processing. *Journal of Neuroscience*. 2006;26(47):12266-73.
50. Hornykiewicz O. Basic research on dopamine in Parkinson's disease and the discovery of the nigrostriatal dopamine pathway: the view of an eyewitness. *Neurodegenerative Diseases*. 2008;5(3-4):114-7.
51. Albin RL, Young AB, Penney JB. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends in neurosciences*. 1989;12(10):366-75.
52. Burre J. The Synaptic Function of alpha-Synuclein. *J Parkinsons Dis*. 2015;5(4):699-713.
53. Halliday GM, Holton JL, Revesz T, Dickson DW. Neuropathology underlying clinical variability in patients with synucleinopathies. *Acta Neuropathol*. 2011;122(2):187-204.
54. Taguchi K, Watanabe Y, Tsujimura A, Tanaka M. Brain region-dependent differential expression of alpha-synuclein. *J Comp Neurol*. 2016;524(6):1236-58.
55. Martinez-Vicente M, Talloczy Z, Kaushik S, Massey AC, Mazzulli J, Mosharov EV, et al. Dopamine-modified alpha-synuclein blocks chaperone-mediated autophagy. *J Clin Invest*. 2008;118(2):777-88.
56. Chu Y, Dodiya H, Aebischer P, Olanow CW, Kordower JH. Alterations in lysosomal and proteasomal markers in Parkinson's disease: relationship to alpha-synuclein inclusions. *Neurobiol Dis*. 2009;35(3):385-98.
57. Tyson T, Steiner JA, Brundin P. Sorting out release, uptake and processing of alpha-synuclein during prion-like spread of pathology. *J Neurochem*. 2016;139 Suppl 1:275-89.

58. Subramaniam SR, Chesselet MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 2013;106-107:17-32.
59. Henchcliffe C, Beal MF. Mitochondrial biology and oxidative stress in Parkinson disease pathogenesis. *Nat Clin Pract Neurol.* 2008;4(11):600-9.
60. Wang Q, Liu Y, Zhou J. Neuroinflammation in Parkinson's disease and its potential as therapeutic target. *Transl Neurodegener.* 2015;4:19.
61. McGeer P, Itagaki S, Boyes B, McGeer E. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology.* 1988;38(8):1285-.
62. Hirsch EC, Hunot S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection? *The Lancet Neurology.* 2009;8(4):382-97.
63. Verstraeten A, Theuns J, Van Broeckhoven C. Progress in unraveling the genetic etiology of Parkinson disease in a genomic era. *Trends Genet.* 2015;31(3):140-9.
64. Bekris LM, Mata IF, Zabetian CP. The genetics of Parkinson disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2010;23(4):228-42.
65. van der Vegt JP, van Nuenen BF, Bloem BR, Klein C, Siebner HR. Imaging the impact of genes on Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2009;164(1):191-204.
66. Schapira AH. Glucocerebrosidase and Parkinson disease: Recent advances. *Mol Cell Neurosci.* 2015;66(Pt A):37-42.
67. Hardy J, Lewis P, Revesz T, Lees A, Paisan-Ruiz C. The genetics of Parkinson's syndromes: a critical review. *Curr Opin Genet Dev.* 2009;19(3):254-65.
68. Sidransky E, Lopez G. The link between the GBA gene and parkinsonism. *The Lancet Neurology.* 2012;11(11):986-98.

69. Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, Aharon-Peretz J, Annesi G, Barbosa ER, et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *New England Journal of Medicine*. 2009;361(17):1651-61.
70. Trinh J, Farrer M. Advances in the genetics of Parkinson disease. *Nat Rev Neurol*. 2013;9(8):445-54.
71. Sorge J, West C, Westwood B, Beutler E. Molecular cloning and nucleotide sequence of human glucocerebrosidase cDNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1985;82(21):7289-93.
72. Jovic M, Kean MJ, Szentpetery Z, Polevoy G, Gingras AC, Brill JA, et al. Two phosphatidylinositol 4-kinases control lysosomal delivery of the Gaucher disease enzyme, beta-glucocerebrosidase. *Mol Biol Cell*. 2012;23(8):1533-45.
73. Berg-Fussman A, Grace M, Ioannou Y, Grabowski G. Human acid beta-glucosidase. N-glycosylation site occupancy and the effect of glycosylation on enzymatic activity. *Journal of biological chemistry*. 1993;268(20):14861-6.
74. Westbroek W, Gustafson AM, Sidransky E. Exploring the link between glucocerebrosidase mutations and parkinsonism. *Trends Mol Med*. 2011;17(9):485-93.
75. Zimran A. How I treat Gaucher disease. *Blood*. 2011;118(6):1463-71.
76. Meivar-Levy I, Horowitz M, Futerman A. Analysis of glucocerebrosidase activity using N-(1-[14C] hexanoyl)-D-erythro-glucosylsphingosine demonstrates a correlation between levels of residual enzyme activity and the type of Gaucher disease. *Biochemical Journal*. 1994;303(2):377-82.
77. Gegg ME, Burke D, Heales SJ, Cooper JM, Hardy J, Wood NW, et al. Glucocerebrosidase deficiency in substantia nigra of parkinson disease brains. *Ann Neurol*. 2012;72(3):455-63.



78. Chahine LM, Qiang J, Ashbridge E, Minger J, Yearout D, Horn S, et al. Clinical and biochemical differences in patients having Parkinson disease with vs without GBA mutations. *JAMA Neurol.* 2013;70(7):852-8.
79. Goker-Alpan O, Schiffmann R, LaMarca ME, Nussbaum RL, McInerney-Leo A, Sidransky E. Parkinsonism among Gaucher disease carriers. *J Med Genet.* 2004;41(12):937-40.
80. Wu YR, Chen CM, Chao CY, Ro LS, Lyu RK, Chang KH, et al. Glucocerebrosidase gene mutation is a risk factor for early onset of Parkinson disease among Taiwanese. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007;78(9):977-9.
81. Neumann J, Bras J, Deas E, O'Sullivan SS, Parkkinen L, Lachmann RH, et al. Glucocerebrosidase mutations in clinical and pathologically proven Parkinson's disease. *Brain.* 2009;132(Pt 7):1783-94.
82. Yap TL, Gruschus JM, Velayati A, Sidransky E, Lee JC. Saposin C protects glucocerebrosidase against alpha-synuclein inhibition. *Biochemistry.* 2013;52(41):7161-3.
83. Elstein D, Alcalay R, Zimran A. The emergence of Parkinson disease among patients with Gaucher disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2015;29(2):249-59.
84. Pardridge WM. Blood-brain barrier delivery. *Drug Discov Today.* 2007;12(1-2):54-61.
85. Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA.* 2014;311(16):1670-83.
86. Benabid AL. Deep brain stimulation for Parkinson's disease. *Current Opinion in Neurobiology.* 2003;13(6):696-706.
87. Pereira EA, Green AL, Nandi D, Aziz TZ. Deep brain stimulation: indications and evidence. *Expert review of medical devices.* 2007;4(5):591-603.

88. DePaolo J, Goker-Alpan O, Samaddar T, Lopez G, Sidransky E. The association between mutations in the lysosomal protein glucocerebrosidase and parkinsonism. *Mov Disord.* 2009;24(11):1571-8.
89. Oeda T, Umemura A, Mori Y, Tomita S, Kohsaka M, Park K, et al. Impact of glucocerebrosidase mutations on motor and nonmotor complications in Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.* 2015;36(12):3306-13.
90. Nichols W, Pankratz N, Marek D, Pauciulo M, Elsaesser V, Halter C, et al. Mutations in GBA are associated with familial Parkinson disease susceptibility and age at onset. *Neurology.* 2009;72(4):310-6.
91. Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, Ashida R, Takahashi Y, Goto J, et al. Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. *Archives of neurology.* 2009;66(5):571-6.
92. Eblan MJ, Nguyen J, Ziegler SG, Lwin A, Hanson M, Gallardo M, et al. Glucocerebrosidase mutations are also found in subjects with early-onset parkinsonism from Venezuela. *Mov Disord.* 2006;21(2):282-3.
93. Aharon-Peretz J, Badarny S, Rosenbaum H, Gershoni-Baruch R. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson disease: phenotype–genotype correlation. *Neurology.* 2005;65(9):1460-1.
94. Lesage S, Anheim M, Condroyer C, Pollak P, Durif F, Dupuits C, et al. Large-scale screening of the Gaucher's disease-related glucocerebrosidase gene in Europeans with Parkinson's disease. *Hum Mol Genet.* 2011;20(1):202-10.
95. Kalinderi K, Bostantjopoulou S, Paisan-Ruiz C, Katsarou Z, Hardy J, Fidani L. Complete screening for glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease patients from Greece. *Neurosci Lett.* 2009;452(2):87-9.
96. Srulijes K, Brockmann K, Ogbamical S, Hobert MA, Hauser AK, Schulte C, et al. Dual-Task Performance in GBA Parkinson's Disease. *Parkinsons Dis.* 2017;2017:8582740.

97. Burdick DJ, Cholerton B, Watson GS, Siderowf A, Trojanowski JQ, Weintraub D, et al. People with Parkinson's disease and normal MMSE score have a broad range of cognitive performance. *Mov Disord*. 2014;29(10):1258-64.
98. Beavan M, McNeill A, Proukakis C, Hughes DA, Mehta A, Schapira AH. Evolution of prodromal clinical markers of Parkinson disease in a GBA mutation-positive cohort. *JAMA Neurol*. 2015;72(2):201-8.
99. Gan-Or Z, Giladi N, Rozovski U, Shifrin C, Rosner S, Gurevich T, et al. Genotype-phenotype correlations between GBA mutations and Parkinson disease risk and onset. *Neurology*. 2008;70(24):2277-83.
100. Lythe V, Athauda D, Foley J, Mencacci NE, Jahanshahi M, Cipolotti L, et al. GBA-Associated Parkinson's Disease: Progression in a Deep Brain Stimulation Cohort. *J Parkinsons Dis*. 2017;7(4):635-44.
101. Pal GD, Hall D, Ouyang B, Phelps J, Alcalay R, Pauciulo MW, et al. Genetic and Clinical Predictors of Deep Brain Stimulation in Young-Onset Parkinson's Disease. *Mov Disord Clin Pract*. 2016;3(5):465-71.
102. Piccini P, Burn DJ, Ceravolo R, Maraganore D, Brooks DJ. The role of inheritance in sporadic Parkinson's disease: evidence from a longitudinal study of dopaminergic function in twins. *Annals of neurology*. 1999;45(5):577-82.
103. Simon D, Lin M, Pascual-Leone A. "Nature versus nurture" and incompletely penetrant mutations. *BMJ Publishing Group Ltd*; 2002.
104. Bras J, Paisan-Ruiz C, Guerreiro R, Ribeiro MH, Morgadinho A, Januario C, et al. Complete screening for glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease patients from Portugal. *Neurobiol Aging*. 2009;30(9):1515-7.
105. Choi JM, Kim WC, Lyoo CH, Kang SY, Lee PH, Baik JS, et al. Association of mutations in the glucocerebrosidase gene with Parkinson disease in a Korean population. *Neurosci Lett*. 2012;514(1):12-5.

106. Dvir H, Harel M, McCarthy AA, Toker L, Silman I, Futerman AH, et al. X-ray structure of human acid- $\beta$ -glucosidase, the defective enzyme in Gaucher disease. *EMBO reports*. 2003;4(7):704-9.
107. Gan-Or Z, Giladi N, Orr-Urtreger A. Differential phenotype in Parkinson's disease patients with severe versus mild GBA mutations. *Brain*. 2009;132(Pt 10):e125.
108. Chiasserini D, Paciotti S, Eusebi P, Persichetti E, Tasegian A, Kurzawa-Akanbi M, et al. Selective loss of glucocerebrosidase activity in sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Molecular neurodegeneration*. 2015;10(1):15.
109. Ortega RA, Torres PA, Swan M, Nichols W, Boschung S, Raymond D, et al. Glucocerebrosidase enzyme activity in GBA mutation Parkinson's disease. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2016;28:185-6.
110. McNeill A, Magalhaes J, Shen C, Chau KY, Hughes D, Mehta A, et al. Ambroxol improves lysosomal biochemistry in glucocerebrosidase mutation-linked Parkinson disease cells. *Brain*. 2014;137(Pt 5):1481-95.
111. Kraoua I, Sedel F, Caillaud C, Froissart R, Stirnemann J, Chaurand G, et al. A French experience of type 3 Gaucher disease: Phenotypic diversity and neurological outcome of 10 patients. *Brain Dev*. 2011;33(2):131-9.

## EKLER

**Ek 1:** Hastalara ait DNA örneklerinin spektrofotometri ölçümleri

Hasta No	Konsantrasyon ng/µl	A° 260/280	Hasta No	Konsantrasyon ng/µl	A° 260/280
GH1	21	1.98	İH4	19.6	1.88
GH2	26.2	1.9	İH5	20	1.95
GH3	24	1.62	İH6	23.2	1.87
GH4	13.5	1.83	İH7	24.1	1.99
GH5	20.3	1.81	İH8	30.2	1.85
GH6	25	1.91	İH9	23	1.97
GH7	23.4	1.92	İH10	22.6	1.82
GH8	21	1.97	İH11	22.2	1.68
GH9	14.4	1.88	İH12	23	2.1
GH10	30.4	1.86	İH13	20.3	1.96
GH11	32.5	1.69	İH14	21.2	1.9
GH12	25.9	2	İH15	24.5	1.69
GH13	22.5	1.92	İH16	16.5	1.83
GH14	23	1.79	İH17	18.3	1.91
GH15	16	1.88	İH18	25	1.71
GH16	21.8	1.99	İH19	23.4	1.92
GH17	22.3	2.1	İH20	21	1.97
GH18	19.9	1.81	İH21	19.4	1.88
GH19	21	1.92	İH22	15	2.1
GH20	23.3	1.97	İH23	21.1	1.96
GH21	32.5	1.88	İH24	28.2	1.9
GH22	24.2	1.86	İH25	24.5	1.69
GH23	28.2	1.69	İH26	22.3	2.1
GH24	35	2	İH27	19.9	1.81
GH25	32.4	1.94	İH28	21	1.92
GH26	29.8	1.95	İH29	23.3	1.97
GH27	32.4	1.9	İH30	30.5	1.88
GH28	22.6	1.82	İH31	24.2	1.86
GH29	27	1.68	İH32	28.2	1.69
GH30	21.5	1.76	İH33	19	2
GH31	18.6	1.88	İH34	20.2	1.8
GH32	23.4	1.94	İH35	19	2.1
GH33	22.3	1.92	İH36	19.8	1.79
İH1	20.6	1.82	İH37	20.2	1.8
İH2	23.2	1.68	İH38	16.9	1.92
İH3	12.5	1.76			

**Ek 2: Kontrollere ait DNA örneklerinin spektrofotometri ölçümleri**

<b>Kontrol No</b>	<b>Konsantrasyon ng/µl</b>	<b>A° 260/280</b>	<b>Kontrol No</b>	<b>Konsantrasyon ng/µl</b>	<b>A° 260/280</b>
K1	21.3	1.9	K59	23.5	1.76
K2	24	1.94	K60	31.2	1.88
K3	30.4	1.95	K61	20	1.95
K4	20.8	2.01	K62	21.3	1.87
K5	35.5	1.92	K63	25	1.99
K6	19.6	1.88	K64	26.9	2.1
K7	26.1	1.78	K65	30	1.81
K8	23	1.89	K66	27.4	1.92
K9	34	1.93	K67	20.7	1.97
K10	26.7	1.95	K68	23.4	1.88
K11	28	1.87	K69	34.4	1.86
K12	25.5	1.99	K70	24.5	1.69
K13	31.3	2.02	K71	28.6	2
K14	29.2	1.82	K72	19.7	1.84
K15	17	1.91	K73	23	2.1
K16	19.8	1.95	K74	22	1.96
K17	22.9	2.09	K75	28.2	1.9
K18	19.5	1.94	K76	24.5	1.69
K19	21.4	1.79	K77	16.5	1.83
K20	23	1.8	K78	22.3	1.91
K21	28.5	1.91	K79	25	1.71
K22	31.2	2.1	K80	23.4	1.92
K23	26.7	1.93	K81	21	1.97
K24	35.3	1.98	K82	24.4	1.88
K25	19	1.79	K83	30.4	1.86
K26	25.5	1.82	K84	32.5	1.69
K27	26.9	2	K85	24.1	1.99
K28	17.7	1.84	K86	31	1.85
K29	31	1.82	K87	23	1.97
K30	23	1.97	K88	19.5	1.94
K31	19.5	1.94	K89	29.8	1.75
K32	29.8	2.05	K90	19.5	1.87
K33	32.4	1.90	K91	22.6	1.75
K34	22.6	1.75	K92	30.5	1.69
K35	27.2	1.68	K93	27.9	1.96

<b>K36</b>	21.5	1.76
<b>K37</b>	34.2	1.88
<b>K38</b>	20.9	1.97
<b>K39</b>	26.3	1.83
<b>K40</b>	24	1.79
<b>K41</b>	25.5	1.9
<b>K42</b>	25.8	1.82
<b>K43</b>	23	1.97
<b>K44</b>	32.4	1.94
<b>K45</b>	29.8	1.95
<b>K46</b>	32.4	1.9
<b>K47</b>	22.6	1.82
<b>K48</b>	27.2	1.68
<b>K49</b>	21.5	1.76
<b>K50</b>	34.6	1.88
<b>K51</b>	20.7	1.95
<b>K52</b>	28.2	1.87
<b>K53</b>	31.4	1.92
<b>K54</b>	32.4	1.82
<b>K55</b>	26	2.04
<b>K56</b>	18.5	1.94
<b>K57</b>	21.6	1.76
<b>K58</b>	21.2	1.68

<b>K94</b>	18.7	1.89
<b>K95</b>	22.6	1.78
<b>K96</b>	23.2	1.83
<b>K97</b>	27.5	1.92
<b>K98</b>	23.2	1.79
<b>K99</b>	16	1.88
<b>K100</b>	21.8	1.99
<b>K101</b>	22.3	2.1
<b>K102</b>	19.9	1.81
<b>K103</b>	21	1.92
<b>K104</b>	23.3	1.97
<b>K105</b>	32.5	1.88
<b>K106</b>	24.2	1.86
<b>K107</b>	28.2	1.69
<b>K108</b>	35	2
<b>K109</b>	20.2	1.8
<b>K110</b>	19	2.1
<b>K111</b>	19.8	1.79
<b>K112</b>	21.9	2
<b>K113</b>	19.5	1.88
<b>K114</b>	31.4	1.91
<b>K115</b>	27.4	1.82
<b>K116</b>	28.6	1.97

**Ek 3: Hastalara ve kontrollere ait RNA örneklerinin spektrofotometri ölçümleri**

<b>Hasta No</b>	<b>Konsantrasyon ng/µl</b>	<b>A° 260/280</b>
<b>H1</b>	73.7	2.1
<b>H2</b>	90.1	1.94
<b>H3</b>	71	1.95
<b>H4</b>	32.9	2.1
<b>H5</b>	91.9	2.13
<b>H6</b>	47	2.11
<b>H7</b>	63	2.07
<b>H8</b>	52.5	2.04

<b>Kontrol No</b>	<b>Konsantrasyon ng/µl</b>	<b>A° 260/280</b>
<b>K1</b>	53.8	2.15
<b>K2</b>	71	2.1
<b>K3</b>	47	2.08
<b>K4</b>	70.8	2.08
<b>K5</b>	51.9	2.1
<b>K6</b>	67.4	2.05
<b>K7</b>	72	2.12

**Ek 4:** PH'da GBA mutasyonu araştırması hasta izlem formu.

PH'DA GBA1 MUTASYONU ARAŞTIRMASI HASTA İZLEM FORMU

ADI-SOYADI:

HASTA NO:

TELEFON:

ADRES:

YAŞ:

CİNSİYET:

HASTALIK BAŞLANGIÇ YAŞI:

ÖNCÜ BELİRTİ: koku azlığı  
depresyon

rsbd  
anksiyete

konstipasyon  
hipofoni

maske yüz  
yazı değiş.

İLK SEMPTOM:

TUTULAN TARAF:

BASKIN SEMPTOM:

ALT TİP: tremör baskın

akinetik-rigid

H&Y:

UPDRS (ON):

UPDRS (OFF):

NON-MOTOR ANKETİ:

DEMANSİEL SEMPTOMLAR

HALÜSİNASYON

ACE-R:

AİLE ÖYKÜSÜ:

OTONOM TUTULUŞ: OH, Gİ, TERLEME, MESANE KONTROLÜ, EREKTİK FNX,

NÖROOFTALM: BAKIŞ KISITLILIĞI

YAVAŞ SAKKADLAR

HAMILTON DEPRESSION SCALE

KULLANILAN İLAÇLAR VE DOZLARI:

L-DOPA YANITI:



## Ek 5: Birleştirilmiş Parkinson Hastalığı Derecelendirme Ölçeği (UPDRS)

Hasta Adı	Protokol No	Değerlendirme tarihi	Değerlendiren kişi
-----------	-------------	----------------------	--------------------

### MDS- UPDRS DERECELENDİRME SAYFASI

	Bilgi veren kişi	Hasta <input type="checkbox"/>	3.3b	Rijidite- sağ ÜE	
		Bakıcı <input type="checkbox"/>	3.3c	Rijidite- sol ÜE	
		Hasta+Bakıcı <input type="checkbox"/>	3.3d	Rijidite- sağ AE	
	<b>KISIM I</b>		3.3e	Rijidite- sol AE	
1.1	Kognitif bozukluk		3.4a	Parmak vurma- sağ el	
1.2	Halüsinasyon ve psikoz		3.4b	Parmak vurma- sol el	
1.3	Depresif duyu durum		3.5a	El hareketleri- sağ el	
1.4	Anksiyöz duyu durum		3.5b	El hareketleri- sol el	
1.5	Apati		3.6a	Pronasyon-supinasyon hareketi- sağ el	
1.6	DDS bulguları		3.6b	Pronasyon-supinasyon hareketi- sol el	
	Anketi cevaplayan	Hasta <input type="checkbox"/>	3.7a	Ayak parmak vurma- sağ ayak	
		Bakıcı <input type="checkbox"/>			
		Hasta+Bakıcı <input type="checkbox"/>			
1.7	Uyku sorunları		3.7b	Ayak parmak vurma- sol ayak	
1.8	Gündüz uyukluluğu		3.8a	Bacak çevikliği- sağ bacak	
1.9	Ağrı ya da diğer hisler		3.8b	Bacak çevikliği- sol bacak	
1.10	Üriner sorunlar		3.9	Sandalyeden kalkma	
1.11	Kabızlık sorunları		3.10	Yürüyüş	
1.12	Ayakta baş dönmesi		3.11	Yürüyüşün donması	
1.13	Yorgunluk		3.12	Postural stabilite	
	<b>KISIM II</b>		3.13	Postür	
2.1	Konuşma		3.14	Hareketin genel doğallığı	
2.2	Tükürük ve salya		3.15a	Postural tremor- sağ el	
2.3	Çiğneme ve yutma			Postural tremor- sol el	
2.4	Yemek yeme		3.16a	Kinetik tremor- sağ el	
2.5	Giyinme		3.16b	Kinetik tremor- sol el	
2.6	Kişisel temizlik		3.17a	İstirahat tremoru- sağ ÜE	
2.7	El yazısı		3.17b	İstirahat tremoru- sol ÜE	
2.8	Hobiler ve diğer aktiviteler		3.17c	İstirahat tremoru- sağ AE	
2.9	Yatakta dönme		3.17d	İstirahat tremoru- sol AE	
2.10	Tremor		3.17e	İstirahat tremoru- dudak çene	
2.11	Yataktan kalkma		3.18	İstirahat tremorunun devamlılığı	
2.12	Yürüme ve denge			Diskinezi var mı?	EVET <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/>
2.13	Donma			Diskinezi derecelendirmeyi etkiliyor mu?	EVET <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/>
3.a	İlaç kullanıyor mu?	EVET <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/>		Hoehn ve Yahr evresi	
3.b	Klinik durumu	KAPALI <input type="checkbox"/> AÇIK <input type="checkbox"/>		<b>KISIM IV</b>	
3.c	Levodopa alıyor mu?	EVET <input type="checkbox"/> HAYIR <input type="checkbox"/>	4.1	Diskinezi ile geçen süre	
3.c1	Evetse, en son dozdan beri geçen süre (dk):		4.2	Diskinezinin işlevlere etkisi	
	<b>KISIM III</b>		4.3	OFF'da geçen süre	
3.1	Konuşma		4.4	Dalgalanmaların işlevlere etkisi	
3.2	Yüz ifadesi		4.5	Dalgalanmaların karmaşıklığı	
3.3a	Rijidite-boyun		4.6	Ağrılı "off" dönemi distonisi	

MOTOR SKOR:

TOPLAM SKOR:

## Ek 6: Hamilton depresyonu değerlendirme ölçeği

### HAMILTON DEPRESYONU DERECELENDİRME ÖLÇEĞİ

9. Ajitasyon	0• Yok 1• Elleriyle oynuyor, saçlarını çekiştiriyor. 2• Elini ovuşturuyor, tırnak yiyor, dudaklarını ısırıyor.	
10. Psikişik anksiyete	0• Herhangi bir sorun yok 1• Subjektif gerilim ve irritabilite 2• Küçük şeylere üzümlüyor. 3• Yüzünden veya konuşmasından endişeli olduğu anlaşılıyor. 4• Korkularını daha sorulmadan anlatıyor.	
11. Somatik anksiyete	0• Yok 1• Hafif 2• İlimli 3• Şiddetli 4• Çok şiddetli	Anksiyeteye eşlik eden fizyolojik sorunlar: Gastrointestinal: Ağız kurması, yellenme sindirim bozukluğu, kramp, geçirme Kardiyovasküler: Palpatasyon, baş ağrısı Solunumla ilgili: Hiperventilasyon, iç çekme, sık idrara çıkma, terleme
12. Somatik semptomlar Gastrointestinal	0• Yok 1• İştahsız, ancak personelin ısrarıyla yiyor. Karnının şiş olduğunu söylüyor. 2• Personel zorlamasa yemek yemiyor. Barsakları ya da gastrointestinal semptomları için ilaç istiyor ya da ilaca ihtiyaç duyuyor.	
13. Somatik semptomlar Genel	0• Yok 1• Ekstremitelerde, sırtında ya da başında ağırlık hissi. Sirt ağrıları, baş ağrısı, kaslarda sızlama. Enerji kaybı, kolayca yorulma. 2• Herhangi bir kesin şikayet 2 puanla değerlendirilir.	
14. Genital semptomlar (libido kaybı, adet bozuklukları vb.)	0• Yok 1• Hafif 2• Şiddetli 3• Anlaşılamadı	
15. Hipokondriyaklık	0• Yok 1• Kuruntulu 2• Aklını sağlık konularına takmış durumda 3• Sık sık şikayet ediyor, yardım istiyor. 4• Hipokondriyaklık delüzyonları	
16. Zayıflama (A ya da B'yi doldurunuz)	A.Tedavi öncesinde (anamnez bulguları) 0• Kilo kaybı yok 1• Önceki hastalığına bağlı olası zayıflama 2• Kesin (hastaya göre) kilo kaybı	B.Psikiyatrist tarafından haftada bir yapılan hastanın tartıldığı kontrollerde. 0• Haftada 0.5 kg'dan daha az zayıflama 1• Haftada 0.5 kg'dan daha fazla zayıflama
17. Durumu hakkında görüşü	0• Hasta ve depresyonda olduğunu bilincinde 1• Hastalığını biliyor,ama bunu iklime, kötü yiyeceklerle, virüslere, istirahate ihtiyacı olduğuna bağlıyor. 2• Hasta olduğunu kabul etmiyor.	

Hastanın Adı/Soyadı → .....

Görüşme Tarihi → ...../...../.....

Değerlendiren Dr. → .....

1. Depresif ruh hali  
(keder, ümitsizlik, çaresizlik, değersizlik)

- 0• Yok
- 1• Yalnızca soruları cevaplarırken anlaşıyor.
  - 2• Hasta bu durumları kendiliğinden söylüyor.
  - 3• Hasta bunların bulunduğu, yüz ifadesinden, postüründen, sesinden ve ağlamasından anlaşıyor.
  - 4• Hasta bu durumlardan birinin kendisinde bulunduğunu, konuşma sırasında sözlü veya sözsüz olarak belirtiyor.

2. Suçluluk duyguları

- 0• Yok
- 1• Kendi kendini kınıyor, insanları üzdüğünü sanıyor.
  - 2• Eski yaptıklarından dolayı suçluluk hissediyor.
  - 3• Şimdiki hastalığı bir cezalandırma. Suçluluk hezeyanları.
  - 4• Kendisini inbar ya da itham eden sesler işitiyor ve/veya kendisini tehdit eden görsel halüsinasyonlar görüyor.

İntihar

- 0• Yok
- 1• Hayatı yaşamaya değer bulmuyor.
  - 2• Keşke ölmüş olsaydım diye düşünüyor veya benzer düşünceler besliyor.
  - 3• İntiharı düşünüyor ya da bu düşüncesini belli eden jestler yapıyor.
  - 4• İntihar girişiminde bulunmuş (herhangi bir ciddi girişim 4 puanla değerlendirilir.)

4. Uykuya dalamamak

- 0• Bu konuda zorluk çekmiyor.
- 1• Bazen gece yattığında yarım saat kadar uyuyamadığından şikayetçi.
  - 2• Gece boyu gözünü bile kırmadığından şikayet ediyor.

5. Gece yarısı uyanmak

- 0• Herhangi bir sorunu yok.
- 1• Gece boyunca huzursuz ve rahatsız olduğundan şikayetçi.
  - 2• Gece yarısı uyanıyor. Yataktan kalkmak 2 puanla değerlendirilir (herhangi bir neden olmaksızın)

5. Sabah erken uyanmak

- 0• Herhangi bir sorunu yok.
- 1• Sabah erkenden uyanıyor ama sonra tekrar uykuya dalıyor.
  - 2• Sabah erkenden uyanıp sonra tekrar uyuyamıyor ve yataktan kalkıyor.

7. Çalışma ve aktiviteler

- 0• Herhangi bir sorunu yok.
- 1• Aktiviteleriyle, işiyle ya da boş zamanlarındaki meşguliyetleriyle ilgili olarak kendini yetersiz hissediyor.
  - 2• Aktivitelerine, işine ya da boş zamanlardaki meşguliyetlerine karşı olan ilgisini kaybetmiş; bu durum ya hastanın bizzat kendisi tarafından bildiriliyor ya da başkaları onun kayıtsız, kararsız, mütereddit olduğunu belirtiyor (işinden ve aktivitelerinden çekilmesi gerektiğini düşünüyor.)
  - 3• Aktivitelerinde harcadığı süre veya üretim azalıyor. Hastanede yatarken her gün en az 3 saat, servisteki işlerinin dışında aktivite göstermeyenlere 3 puan verilir.
  - 4• Hastalığından dolayı çalışmayı tamamen bırakmış. Yatan hastalarda servisteki işlerin dışında hiçbir aktivite göstermeyenlere ya da servis işlerini bile yardımsız yapamayanlara 4 puan verilir.

3. Retardasyon (düşünce ve konuşmalarda yavaşlama, konsantrasyon yeteneğinde bozulma, motor aktivitede azalma)

- 0• Düşünceleri ve konuşması normal.
- 1• Görüşme sırasında hafif retardasyon hissediliyor.
  - 2• Görüşme sırasında açıkça retardasyon hissediliyor.
  - 3• Görüşmeyi yapabilmek çok zor.
  - 4• Tam stuporda.

**Ek 7: Addenbrook kognitif muayene formu (ACE-R)**






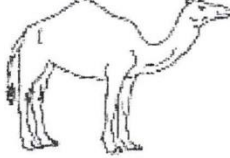




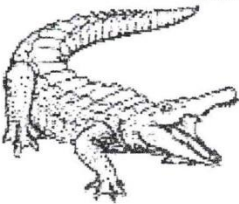
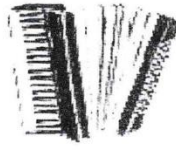
ADDENBROOK KOGNİTİF MUAYENESİ – ACE-R					
Son Gözden Geçirilmiş Versiyon A (2005)					
İsim: _____			Tarih: _____		
Doğum Yılı: _____			Muayene eden: _____		
El Tercihi: _____			Eğitim (yılı): _____		
			Meslek: _____		
<b>ORYANTASYON</b>					
Gün	Tarih	Ay	Yıl	Mevsim	[Skor 0-5]
_____ □	_____ □	_____ □	_____ □	_____ □	
Ülke	Kent	Hastane	Bölüm	Kat	[Skor 0-5]
_____ □	_____ □	_____ □	_____ □	_____ □	
<b>KAYIT</b>					
Mavi □	Şahin □	Lale □	Deneme sayısı _____		[Skor 0-3]
<b>DİKKAT ve KONSANTRASYON</b>					
93	86	79	72	65	[Skor 0-5]
_____ □	_____ □	_____ □	_____ □	_____ □	
A	Y	N	Ü	D	
_____ □	_____ □	_____ □	_____ □	_____ □	
<b>BELLEK - Hatırlama</b>					
Mavi □	Şahin □	Lale □			[Skor 0-3]
<b>BELLEK – Anterograd Bellek</b>					
	1. Deneme	2. Deneme	3. Deneme	[Skor 0-7]	
Mahir Çelik	_____	_____	_____		
Arpaçay mah.	_____	_____	_____		
Hisar Yokuşu sok, no:73	_____	_____	_____		
Ereğli	_____	_____	_____		
<b>BELLEK – Retrograd Bellek</b>					
Başbakanın adı _____ □					[Skor 0-4]
Türkiye'nin eski kadın başbakanının adı _____ □					
Cumhurbaşkanının adı _____ □					
Türkiye'nin 1960'larda idam edilen başbakanının adı _____ □					



Ek 7'nin devamı

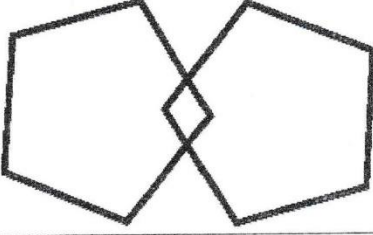
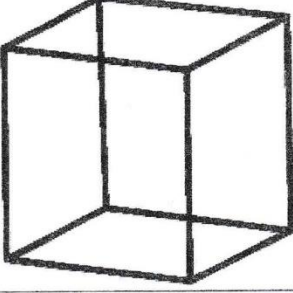
SÖZEL AKICILIK – “K” harfi ve hayvanlar					[Skor 0-7]	AKICILIK
K harfi						
				>17	7	
				14-17	6	
				11-13	5	
				8-10	4	
				6-7	3	
				4-5	2	
				2-2	1	
				<2	0	
				Toplam	Doğru	
Hayvanlar					[Skor 0-7]	
				>21	7	
				17-21	6	
				14-16	5	
				11-13	4	
				9-10	3	
				7-8	2	
				5-6	1	
				<5	0	
				Toplam	Doğru	
DİL -Anlama					[Skor 0-1]	DİL
Okuma					[Skor 0-1]	
GÖZLERİNİZİ KAPAYIN						
3 basamaklı emir					[Skor 0-3]	
“Kağıdı sağ elinize alın. <input type="checkbox"/> Ortadan ikiye katlayın. <input type="checkbox"/> Ayağınızın dibine bırakın. <input type="checkbox"/> ”						
DİL - Yazma					[Skor 0-1]	

Ek 7'nin devamı

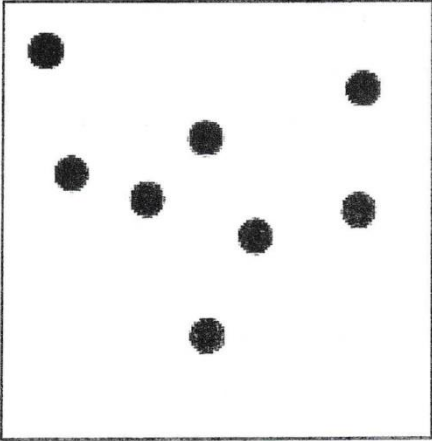
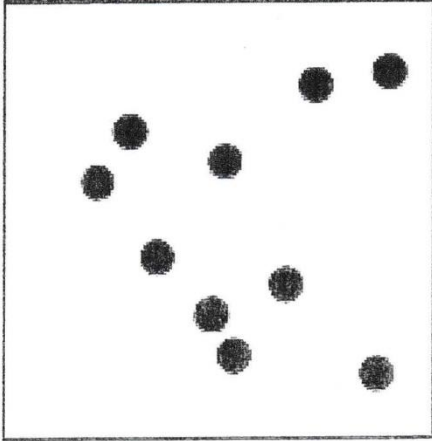
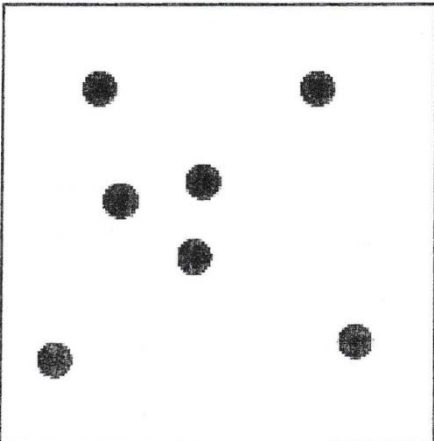
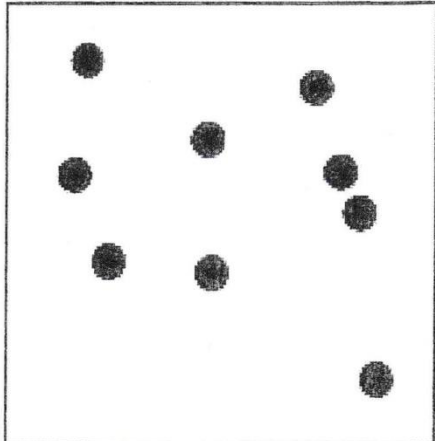
DİL - Tekrarlama			
Şereflikoçhisar <input type="checkbox"/>	Kavrayışsızlık <input type="checkbox"/>	2 1 0	4 3 0-2
Zavalcılık <input type="checkbox"/>	İstatistikçi <input type="checkbox"/>		
"Üstünde, ötesinde ve altında" <input type="checkbox"/>			[Skor 0-1]
"Eğer gelmiş olsaydı belki anlayabilirdik" <input type="checkbox"/>			[Skor 0-1]
DİL - Adlandırma			
			[Skor 0-2] Kalem + saat
			[Skor 0-10]
			
			
DİL - Anlama			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Krallıkla ilgili olanı gösterin _____</li> <li>• Hangisi keseli bir hayvandır, gösterin _____</li> <li>• Hangisi Antarktika'da yaşar, gösterin _____</li> <li>• Hangisi denizcilikle ilgili bir nesnedir, gösterin _____</li> </ul>			[Skor 0-4]

DİL

Ek 7'nin devamı

DİL - Okuma			[Skor 0-1]	DİL
Vahşet <input type="checkbox"/>	Tedavi <input type="checkbox"/>	Serdengeçti <input type="checkbox"/>		
Sabahın köründe gitmiş. <input type="checkbox"/>			Geldiğini görmemişim. <input type="checkbox"/>	
GÖRSEL-MEKANSAL YETENEKLER			[Skor 0-1]	GÖRSEL-MEKANSAL İŞLEVLER
			[Skor 0-2]	
			[Skor 0-5]	
Saat			[Skor 0-5]	

Ek 7'nin devamı

ALGİSAL YETENEKLER		[Skor 0-4]
		
		

GÖRSEL-MEKANSAL YETENEKLER

5



Ek 7'nin devamı

ALGISAL YETENEKLER				[Skor 0-4]	GÖRSEL-MEKANSAL YETENEKLER
HATIRLAMA				[Skor 0-7]	BELLEK
Mahir Çelik Arpaçay mah. Hisar Yokuşu sok., no:73 Ereğli		_____ _____ _____			
TANIMA				[Skor 0-5]	SKOR
Tahir Çelik	Mahir Çelik	Mahir Çetin	hatırladı		
Bostanlık mah.	Arpaçay mah.	Narlıçeşme mah.	hatırladı		
Eskihisar sok.	Kale Yokuşu sok.	Hisar Yokuşu sok.	hatırladı		
No: 37	No: 73	No: 76	hatırladı		
Ereğli	Eğridir	Salihli	hatırladı		
GENEL SKORLAR					
			MMSE	/30	
			ACE-R	/100	
ALTSKORLAR					
			Dikkat ve Oryantasyon	/18	
			Bellek	/26	
			Akılcılık	/14	
			Dil	/26	
			Görsel-Mekansal	/16	

## Ek 8: PH için non-motor belirtileri değerlendirme ölçeği

### PARKINSON HASTALIĞI İÇİN NON-MOTOR BELİRTİLERİ DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

Hasta No: \_\_\_\_\_ Hasta Adı: \_\_\_\_\_ Yaş: \_\_\_\_\_

Geçen ay içinde olan belirtiler değerlendirilir. Her bir belirti aşağıdaki şekilde derecelendirilir;

**Şiddet:** 0=Yok, 1= Hafif: Belirtiler mevcut ancak hastaya rahatsızlık vermiyor ya da az rahatsız edici; 2=Orta: hastaya biraz rahatsızlık veriyor ya da engelliyor; 3= Ağır: hastaya önemli derecede rahatsızlık veriyor ya da engelliyor.

**Sıklık:** 1= Nadiren (<1/hafta); 2= Sık (1/hafta); 3= Sık (haftada birkaç kez); 4= Çok sık (her gün ya da her zaman)

Alanların değerlendirmedeki ağırlığı farklılık gösterebilir. Evet/hayır cevapları en son yapılacak sıklık x şiddet hesaplamasına dahil edilmeyecektir. (Soru kısımlarında parantez içinde yazılan metinler ölçeğe açıklayıcı olması amacıyla eklenmiştir).

#### Alan 1: Düşmeler dahil kardiyovasküler

Şiddet      Sıklık      Şiddet x Sıklık

1. Otururken ya da yatarken ayağa kalktığı anda hasta baş dönmesi, sersemlik ya da güçsüzlük hissediyor mu?
2. Göz kararması ya da baygınlık nedeniyle hasta düşüyor mu?

SKOR:

#### Alan 2: Uyku/fatigue

3. Günlük aktiviteler sırasında hasta şekerleme yapıyor mu ya da uykuya dalıyor mu? (örneğin, bir konuşma sırasında, yemek saatlerinde, televizyon seyredirken ya da okurken)
4. Yorgunluk (fatigue) ya da enerji yoksunluğu (yavaşlık değil) hastanın günlük aktivitelerini kısıtlıyor mu?
5. Uykuya dalmakta ya da uykuyu sürdürmekte zorlanıyor mu?
6. Hareketsiz bir şekilde otururken ya da uzanırken bacaklarında hareket etmekle düzelen huzursuzluk ya da bacaklarını hareket ettirme ihtiyacı hissediyor mu?

SKOR:

## Ek 8'in devamı

### Alan 3: Duygu durum /Bilişsel işlevler

	Siddet	Sıklık	Siddet x Sıklık
7. Çevresine karşı ilgisizlik var mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Yeni işlere başlama konusunda motivasyon kaybı ya da bir şey yapmaya karşı ilgisizlik var mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Görünürde bir neden olmaksızın hasta kendini sınırlı, endişeli ya da korkmuş hissediyor mu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. Hasta üzgün ya da depresif görünüyor mu ya da bu şekilde hissettiğini ifade etti mi?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. Hastanın duygu durumunda normalde beklenen iniş çıkışlar olmaksızın, donukluk oluyor mu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. Hasta her zaman yaptığı aktivitelerden keyif almakta zorlandığını ya da keyif alamadığını hissediyor mu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SKOR:

### Alan4: Algı problemleri / halüsinasyonlar

13. Hasta orada olmayan şeyleri gördüğünü söylüyor mu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14. Hastanın, doğru olmadığını bildiğiniz bazı inançları var mı? (Örneğin, zarar göreceğine, soyulacağına ya da aldatıldığını ilişkin düşünceler)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15. Hastanın ikili görmeden yakındığı oldu mu? ( iki farklı gerçek obje, bulanık görme değil)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SKOR:

## Ek 8'in devamı

### Alan 5: Dikkat/ Bellek

16. Hasta, aktiviteler sırasında dikkati sürdürmede zorluk yaşıyor mu? (Örneğin, okuma ya da karşılıklı konuşma sırasında)
17. Hastanın kısa bir süre önce kendisine söylenen şeyleri ya da son birkaç gün içinde olan olayları unuttuğu oluyor mu?
18. Hastanın bazı şeyleri yapmayı unuttuğu oluyor mu? (Örneğin, ilaçlarını almak ya da ev aletlerini prizden çekmek /kapatmak)

Siddet                      Sıklık                      Siddet x Sıklık

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

SKOR:

### Alan 6: Gastrointestinal trakt

19. Gün içinde hastanın salyası akıyor mu?
20. Hastanın yutma güçlüğü var mı?
21. Hastanın kabızlık şikayeti var mı? (haftada 3 defadan daha seyrek dışkılama)

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

SKOR:

### Alan 7: Üriner

22. Hasta idrarını tutmada zorluk yaşıyor mu? (urgency)
23. Hasta son işemeden sonra 2 saat içinde tekrar işeme ihtiyacı duyuyor mu? (sıklık)
24. Hasta geceleri işemek için düzenli olarak kalkmak zorunda kalıyor mu? (noktüri)

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

SKOR:

## Ek 8'in devamı

### Alan 8: Cinsel işlevler

25. Hastanın cinselliğe karşı ilgisinde değişiklik var mı? (çok artmış ya da azalmış, lütfen altını çiziniz)
26. Hastanın cinsel ilişkide bulunmayla ilgili sorunu var mı?

Siddet   Sıklık   Siddet x Sıklık

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

SKOR:

### Alan 9: Diğer

27. Bilinen başka diğer durumlarla açıklanamayan ağrılardan yakınıyor mu? (ilaç alımıyla ilişkili mi? ya da anti-parkinson ilaçlarla düzeliyor mu?)
28. Tat alma ya da koku almada değişiklik var mı?
29. Kilo değişikliği var mı? (diyetle ilişkili olmayan)
30. Aşırı terleme var mı? (sıcak havayla ilişkili olmayan)

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------

SKOR

TOPLAM SKOR: