

Parkinson Hastalığı ve Akciğer Kanserinde PI3K/ Akt Yolağı Faktörlerinin Ekspresyon Düzeylerinin Karşılaştırılması

Comparison of The Expression Levels of PI3K/Akt Pathway Factors in Parkinson's Disease and Lung Cancer

Elif Şanlı^{1*}, Nazlı Yalçınkaya², Erdem Tüzün¹

¹İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Baylor College of Medicine, Patoloji Ana Bilim Dalı, Houston, Texas, ABD

Cite this article as: Şanlı E, Yalçınkaya N, Tüzün E. Comparison of The Expression Levels of PI3K/Akt Pathway Factors in Parkinson's Disease and Lung Cancer. Experimed 2018; 8(2): 52-7.

ÖZ

Amaç: Parkinson hastalığı (PH) kırk yaş üzeri popülasyonun %0,2'ni etkileyen en sık görülen nörodegeneratif hastalıklardan biridir. Yapılan çalışmalarla PH'de kanser prevalansının düşük olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar sebebiyle fosfoinositidil-3-kinaz (PI3K)/Akt sağkalım yolağı dikkatleri çekmiştir. Bu yolağa ait gen ekspresyon değişikliklerinin incelenmesi, PH tedavi ve biyobelirteçlerinin bulunması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, PH, akciğer kanseri (AK) hastalarından ve sağlıklı kontrollerden alınan periferik kan mononükleer hücrelerinde DJ-1-PI3K/Akt sinyal yolağı komponentlerinin ve bu yolağı etkileyen proteinlerin ekspresyonu ölçülmüş, ekspresyon düzeylerinin PH'nin klinik parametreleri ile korelasyonu araştırılmıştır.

Bulgular: Fosfatase ve tensin homolog (PTEN) ve mitokondriyal apoptoz-indükleyici faktör 1 (Aifm1)'in PH'de sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede azaldığı ve insülin-benzeri büyüme faktörü (IGF-1)'in anlamlı derecede arttığı saptandı. AK hastalarında ise PTEN, kaspaz-3 ve α -sinükleinin ekspresyonlarının anlamlı derecede arttığı, IGF-1'in anlamlı derecede azaldığı saptandı. Ayrıca α -sinüklein, IGF-1, kaspaz-3, DJ-1, memeli hedef rapamisin (mTOR), Mdm2 ve Akt-1 faktörleriyle PH'nin klinik alt tipleri arasında korelasyon belirlendi.

Sonuç: Pro-apoptotik PTEN ve anti-apoptotik PI3K/Akt yolağının ekspresyon seviyelerinde görülen değişiklik PH'de artan nöronal yıkımı kompanse etmek amacıyla anti-apoptotik yolaklarının etkinleştirildiğini düşündürmektedir. Çeşitli PI3K/Akt yolağı ekspresyon düzeyleri ile klinik parametreler arasında korelasyon saptanması PH olgularında bu faktörlerin özürülük ve prognoz belirteci olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Özellikle postural instabilite ile anti-apoptotik faktör arasındaki ekspresyon değişikliği nöronal yıkımı akla getirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Parkinson Hastalığı, apoptoz, PTEN, alfa-sinüklein, PI3K/Akt

ABSTRACT

Objectives: Parkinson's disease (PD) is a common neurodegenerative disorder that affects >0.2% of the population aged >40 years. Several studies have reported a low prevalence of cancer in individuals with PD. Therefore, the PI3K/Akt signaling pathway has received increasing research attention. Investigating variations in expression levels of components associated with this pathway might aid in improving novel treatment methods and biomarkers for PD.

Material and Method: We evaluated expression levels of components of the DJ-1-PI3K/Akt signaling pathway in the peripheral blood mononuclear cells of patients with PD, those with lung cancer (LC), and healthy controls and attempted to identify a possible correlation between expression levels and clinical features of PD.

Results: Levels of phosphatase and tensin homolog (PTEN) and apoptosis-inducing factor-1 significantly decreased, whereas those of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) significantly increased in patients with PD than in healthy controls. In patients with LC, levels of PTEN, caspase-3, and α -synuclein significantly increased, whereas those of IGF-1 significantly decreased. Furthermore, a correlation was observed between the clinical subtypes of PD and levels of α -synuclein, IGF-1, caspase-3, DJ-1, mechanistic target of rapamycin, Mdm2, and Akt-1 factors.

Conclusion: Patients with PD showed decreased expression levels of proapoptotic PTEN and increased levels of components of the antiapoptotic PI3K/Akt pathway, which suggests an activation of the antiapoptotic pathway to compensate for the increased neuronal destruction in PD. The correlation between expression levels of components of several PI3K/Akt signaling pathway and clinical parameters suggests that these factors can be used as disability and prognostic markers in patients with PD. Decreased expression levels of antiapoptotic factors in patients with PD having postural instability, in particular, suggests a close relationship between neuronal destruction and this symptom.

Keywords: Parkinson's disease, apoptosis, PTEN, alpha-synuclein, PI3K/Akt

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Elif Şanlı E-mail: elifsanli12@gmail.com

Geliş Tarihi/Received Date: 13.09.2018 **Kabul Tarihi/Accepted Date:** 14.09.2018

© Copyright 2018 by The Istanbul University Faculty of Science • Available online at <http://experimed.istanbul.edu.tr/tr/>

© Telif Hakkı 2018 İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi • Makale metnine http://experimed.istanbul.edu.tr/tr/_sayfasından ulaşılabilir.

GİRİŞ

Parkinson hastalığı (PH) 65 yaş üzeri popülasyonda en sık görülen nörodejeneratif hastalıklardan biri olmakta ve yaşla birlikte insidansı artmaktadır (1, 2). Farklı patolojik süreçlerin rol oynadığı bilinen PH, özellikle substantia nigra pars kompakta (SNpc)'da bulunan dopaminerjik nöronların ölümüyle karakterize edilir (3, 4). Yapılan çalışmalar, kanser insidansının PH tanısı konulmadan önce düşük olduğuna işaret etmekte ve bu iki hastalığın ortak biyolojik yolları kullandığı düşünülmektedir (5-8). PARK1, PARK2 ve α -sinüklein gibi nörodejeneratif hastalıklarda rolü olduğu bilinen genlerin kanserle olan ilişkisi gösterilmiştir. Aynı zamanda, PTEN gibi tümör baskılayıcı genlerin de PH olgularında ekspresyonlarının değiştiği gösterilmiştir (9). Mutasyonlar sonucu hücrelerin apoptoza yatkınlığının PH riskini artırması ve kanser riskinde azalmaya yol açması beklenirken, apoptoza yatkınlığı azaltan mutasyonların da kanser riskini artırması ve nöronal apoptozu engelleyerek PH riskini azaltabileceğini düşündürmektedir.

Önemli sağkalım yollarından biri olan fosfoinositidil-3-kinaz (PI3K)/Akt yolağı (10, 11), ailevi PH olgularında görülen PTEN-Uyarılmış Putatif Kinaz 1 (PINK1), DJ1, parkin, α -sinüklein gibi proteinlerin mutasyonlarıyla ilişkili bulunması (12-14), çeşitli sağkalım-ölüm mekanizmalarında rol alması (15) ve PH olgularında SN'de Akt ekspresyonunun azaldığının görülmesi (16, 17), bu yolağa olan dikkati artırmış ve üzerinde çok sayıda araştırma yapılmıştır (18-22). Hücrel sağkalımda rolü olan Akt'nin ilgi odağı olmasının sebeplerinden birisi halihazırda olan PH tedavi yöntemlerinin nöron dejenerasyonunu tamamen engelleyici etkiye sahip olmamasıdır. Büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından uyarılmış PI3K'nin Akt'yi aktiflemesiyle, Akt serin/treonin kinaz fonksiyonuyla birçok hücrel süreçleri düzenlemeye başlar (10, 11, 23). PI3K/Akt yolağı hücrel sağkalımdaki etkisini özellikle anti-apoptotik mekanizmalar üzerinden gerçekleştirmektedir. Hücrelerin sağkalımına etkisi olan Akt aktivasyonunun, PTEN ve DJ-1 gibi PH olgularında ekspresyonlarının değiştiği gösterilen genlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (12) ve DJ-1'in PTEN'i baskılayarak PI3K/Akt sinyal yolağının aktivasyonunu sağladığı bildirilmiştir (24-26).

Bu çıktılar doğrultusunda PI3K/Akt yolağına ait ekspresyon değişimlerinin araştırılmasının PH'ye yönelik tedavi ve prognostik/diagnostik biyobelirteçlerin bulunmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Periferik kanda PH fizyopatolojisini yansıtan ekspresyon değişikliklerinin saptanması kolay kullanımlı tanılabilir laboratuvar testlerinin geliştirilmesini mümkün kılacaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Parkinson ve Akciğer Kanseri Hastaları ve Sağlıklı Kontroller

Bu çalışmaya 49 idiyopatik PH, 23 AK hastası ve yaş-uyumlu 49 sağlıklı kontrol alındı. Birleşik Krallık Parkinson Hastalığı Derneği Beyin Bankası Kriterlerine göre klinik olarak kesin PH tanısı almış tedavi altındaki olgular dahil edildi. Akciğer kanseri hastaları ise görüntüleme ve patolojik inceleme ile tanısı konulmuş 2. ve 3.

evre, tedavi altındaki akciğer adenokanser hastalarından oluşmaktadır. Sağlıklı kontrollerin herhangi bir şikayetlerinin olmasına ve tam kan sayımı, sedimentasyon ve rutin biyokimya testlerinin normal sonuçlanmasına dikkat edilmiştir.

Gerçek zamanlı PZR

PH, AK olgularından ve sağlıklı kontrollerden EDTA'lı tüplere alınan 10 mL periferik venöz kan örneklerinden periferik kan mononükleer hücreleri izole edildi ve -80°C derin dondurucuda saklandı.

PI3K/AKT yolağı faktörlerinin (Akt-1, mTOR, kaspaz 9, MDM2), bu yolağı regüle eden faktörlerin (DJ-1, PTEN, α -sinüklein, IGF-1) ve apoptoz ile ilişkili faktörlerin (Bcl-2, kaspaz 3, Aifm1) ekspresyon düzeyleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile PH ve kontrol olgularında incelenmiştir. Light Cycler 480 II (LightCycler® 480 Real-Time PCR System, Roche Applied Science, İstanbul-Türkiye) cihazı ve Light Cycler 480 SYBR Green (LightCycler® SYBR Green I Master, Roche Applied Science, İstanbul-Türkiye) kit kullanılarak PI3K/Akt sinyal yolağına ait araştırılacak genler uygun primerlerle amplifiye edildi. Deney sonuçları AbsQuant/2nd DerivativeMax, Tm Calling programlarında analiz edilerek örneklerin ekspresyona başladıkları sikluslar (Cp değerleri) not edilmiştir. Çoğaltılan DNA'nın istenilen hedef bölge olup olmadığını anlayabilmek ve primer-dimer gibi ürünleri analizden çıkartabilmek için erime eğrisi analizi ("melting curve") yapıldı. Ekspresyon düzey tayini için rölatif kantifikasyon yapılması amacıyla tek bir örnekte iki farklı dizinin (hedef gen ve referans gen) ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldı ve örnek normalizasyonuna temel oluşturmak üzere bu çalışmada GAPDH geni referans olarak kullanıldı. Ekspresyon düzeyinin belirlenmesi için $\Delta\Delta Ct$ yöntemi ile Graph-Pad Prism 6 paket programı kullanıldı (27, 28).

Cell Death Detection ELISA Kiti ile Apoptoz Tayini

Periferik kan mononükleer hücre ölümünün hangi formda (nekroz yada apoptoz) olduğunu anlayabilmek için, hücrel süpernatantta mono- veya oligonükleozom varlığı incelenerek, anti-histon antikorları ile apoptotik hücre ölümü ELISA temelli bir yöntemle ölçülmüştür.

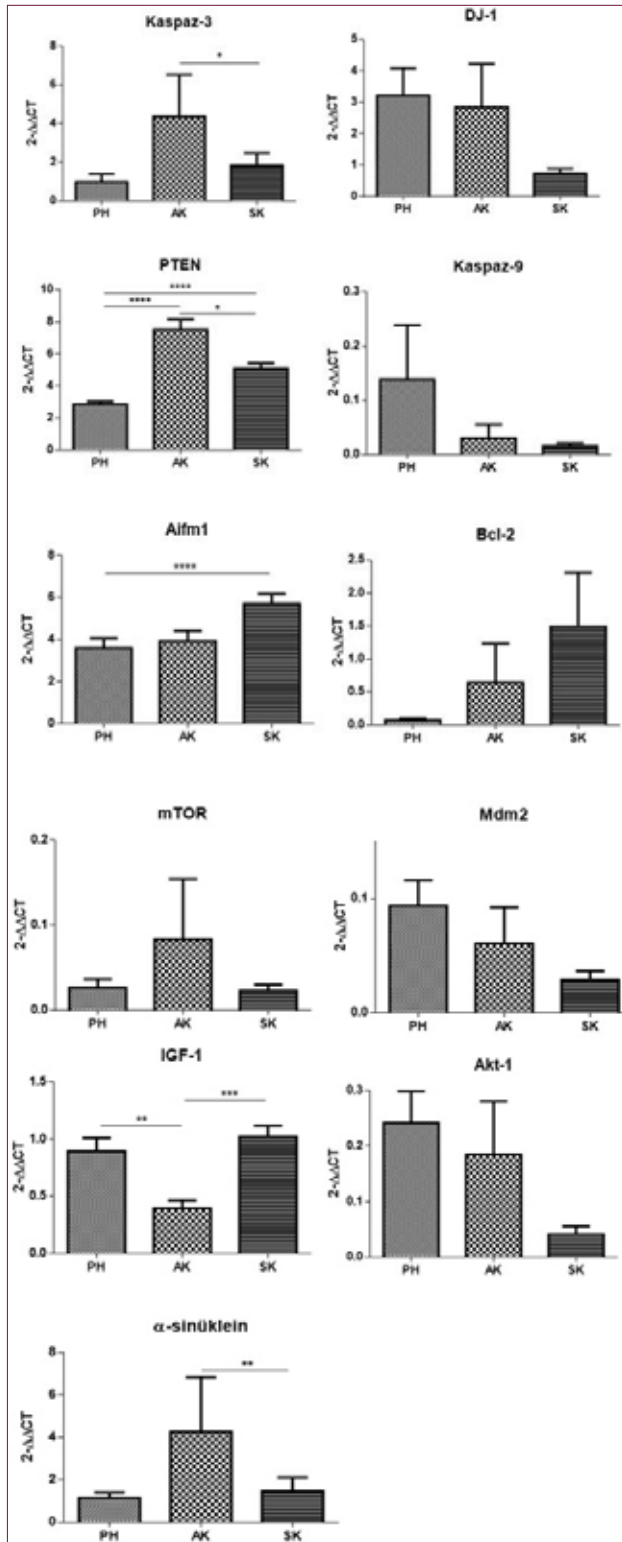
İstatistiksel Analiz

Kolmogorov-Smirnov yöntemiyle verilerin gruplar içinde normal dağılım göstermediği saptandığından, ekspresyon değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılması amacıyla parametrik olmayan yöntemler kullanıldı. İkili grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, üçlü grup karşıştırmalarında ise Kruskal-Wallis testi ve post-hoc Dunn testi kullanıldı. Klinik parametreler ve gen ekspresyon düzeyleri ve genlerin ekspresyon düzeylerinin birbirleriyle korelasyonları Spearman korelasyon testi ile değerlendirildi ve korelasyon kat sayıları (R) hesaplandı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Araştırma Grubu Bireylerinin Demografik Özellikleri

Çalışmaya 22'si kadın ve 27'si erkek olmak üzere toplamda 49 Parkinson hastası katılmıştır ve katılan grubun yaş ortala-



Şekil 1. Ekspresyonu çalışılan genlerin 2-ΔΔCT değerlerinin Parkinson hastalığı (PH), akciğer kanseri (AK) ve sağlıklı kontrol (SK) olguları arasında karşılaştırılması. Dikey çizgiler standart sapmaları göstermektedir. Yatay çizgiler post-hoc analize göre anlamlı sonuçlanan ikili grup karşılaştırmalarını göstermektedir (*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001).

ması (±standart sapma, minimum-maksimum) 57,4±10,1 (39-84)'dir. Hastalık başlangıç yaşı ortalaması 50,9±13,7 ve hastalık süresi 4,6±3,4 yıl (1-13)'dir. Parkinson hastalarının tremor (18 olgu), bradikinezi (24 olgu), rijidite (30 olgu), postural instabilite (11 olgu) semptomlarına sahip oldukları kayıt edilmiştir. Hoehn-Yahr skoru ortalamaları ise 2,14±0,7 (1-3) olarak hesaplanmıştır. Akciğer kanseri hasta grubu 2'si kadın ve 21'i erkek olmak üzere toplamda 23 hastadan oluşmaktadır. Hastaların yaş ortalaması 56,4±11,9 (37-72)'dir. Sağlıklı kontrol grubu ise 28 kadın, 21 erkek toplam 49 sağlıklı kontrolden oluşmaktadır ve yaş ortalamaları 56,2±7,3 (45-79) olarak hesaplanmıştır. Grupların yaş değerleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. AK ve diğer gruplar arasında (PH ve SK) cinsiyet dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir (ki-kare testi ile p=0,0005).

PI3K/Akt Sinyal Yolağı İlişkili Genlerin Ekspresyonu

PI3K/Akt sinyal yolağında yer alan parametrelerin PH, AK ve SK gruplarındaki ekspresyon seviyelerindeki gerçek zamanlı PZR yöntemi ile saptandı. PH olgularında PTEN, Aifm1 ve Bcl-2 ekspresyon düzeylerinin azaldığı, DJ-1, kaspaz-9, Mdm-2 ve Akt-1 ekspresyon düzeylerinin arttığı saptandı. AK olgularında ise kaspaz-3, PTEN, mTOR ve α-sinüklein ekspresyon düzeyleri farklı derecelerde yüksek bulunurken, IGF-1 düzeyi düşük bulundu (Şekil 1).

Ekspresyon Değişiklikleri ve Klinik Parametreler Arasındaki Korelasyonlar

PI3K/Akt yolağında araştırılan genlerin ekspresyon düzeyleri PH olgularının klinik parametreleriyle korelasyonlarına bakıldığında, IGF-1 ile hastalık başlangıç yaşı arasında negatif korelasyon (p=0,003 R=-0,586), Aifm-1 ile Hoehn-Yahr skoru arasında pozitif korelasyon (p=0,030, R=0,578) saptandı. Ayrıca Hoehn-Yahr skoru ile IGF-1 geninin ekspresyon düzeyi arasında anlamlılığa yakın pozitif korelasyon saptandı (p=0,094 R=0,464). Diğer klinik parametrelerle ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

Apoptoz ve Sağkalım Faktörlerinin Ekspresyon Düzeylerinin Parkinson Hastaları ve Sağlıklı Kontrollerde Birbirine Korelasyonları

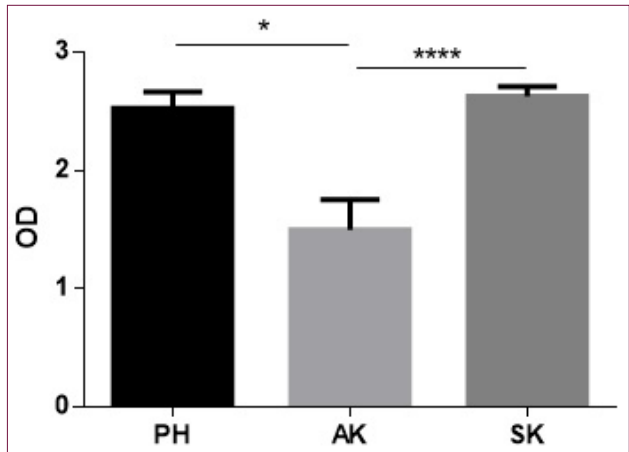
PH olgularında kaspaz-3, kaspaz-9, mTOR, Mdm2, α-sinüklein, Aifm1, IGF-1, DJ-1, PTEN ve Akt-1'in gen ekspresyonları arasında doğru korelasyon varken, Bcl-2'nin hiçbir genle korelasyon göstermediği bulundu. Bu bulgu Bcl-2'nin PI3K/Akt sinyal yolağı üzerinde yer almaması ile ilişkilendirildi. Bonferroni düzeltmesi sonrasında (p=0,05/55 istatistiksel karşılaştırma=0,0009) bütün bu korelasyon değerlerinin anlamlı kalmaya devam ettiği görüldü.

Sağlıklı kontrollerde ise Bonferroni düzeltmesinden sonra kaspaz-3, kaspaz-9, Akt-1 ve α-sinüklein gen ekspresyonları arasında anlamlı doğru korelasyon vardı. Bunlardan sadece kaspaz-3 - α-sinüklein, kaspaz-9 - α-sinüklein ve kaspaz-9 - Akt-1 arasındaki korelasyonların hem PH hemde sağlıklı kontrol olgularında anlamlı olduğu görüldü.

Apoptoz ve Sağkalım Faktörlerinin Ekspresyon Düzeylerinin Parkinson Hastaları Klinik Alt Tipleriyle Karşılaştırılması

Aifm1 gen ekspresyon düzeyleri kadın Parkinson hastalarında erkek Parkinson hastalarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Diğer faktörlerin ekspresyonunun cinsiyete bağlı olarak değişmediği gözlemlendi. Klinik bulgulara göre ekspresyon değerleri karşılaştırıldığında bradikinezi ve rijiditesi olan olgularda sırasıyla α -sinüklein ve IGF-1 düzeylerinin anlamlı derecede arttığı saptandı. Postural instabilitesi olanlarda ise çok sayıda sağkalım artırıcı ve apoptoz baskılayıcı gen ekspresyonunun belirgin derecede azaldığı gözlemlendi (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışmaya dahil edilen MS ve sağlıklı olguların demografik ve klinik özellikleri			
	Kadın	Erkek	p
Aifm1	4,8±3,4	2,6±2,6	0,009
Faktörler – Klinik Alt Tipler	Pozitif	Negatif	p
α -sinüklein – Bradikinezi	1,7±1,9	0,6±1,0	0,003
IGF-1 – Rijidite	1,0±0,9	0,7±0,4	0,04
Kasp3 - Postural İnstabilite	0,07±0,6	1,0±2,1	0,02
DJ-1 - Postural İnstabilite	0,7±1,1	4,2±7,1	0,005
mTOR - Postural İnstabilite	0,003±0,0003	0,03±0,05	0,03
Mdm2 - Postural İnstabilite	0,1±0,1	0,02±0,02	0,01
α -sinüklein - Postural İnstabilite	0,4±0,6	1,4±1,7	0,01
Akt-1 Postural İnstabilite	0,05±0,05	0,3±0,4	0,002



Şekil 2. Parkinson hastaları (PH), akciğer kanseri (AK) olguları ve sağlıklı kontrollerin serumlarında Cell Death Detection ELISA Kiti ile saptanan nükleozom düzeyleri. Dikey çizgiler standart sapmaları göstermektedir. Yatay çizgiler post-hoc analize göre anlamlı sonuçlanan ikili grup karşılaştırmalarını göstermektedir (*p<0,05; ****p<0,0001).

Serum Nükleozom Seviyesi ve Hasta Grupları ve Sağlıklı Kontroller Arasındaki Korelasyon

PH, AK olgularının ve sağlıklı kontrollerin serumlarında bir apoptotik hücre ölümü belirteci olarak mono- veya oligonükleozom düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. AK hastalarında sağlıklı kontrollere ve PH olgularına kıyasla azalma görülürken, PH olgularında periferik kan örneklerinde nükleozom düzeyinde anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (Şekil 2).

Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden alınmıştır (2012/1415-1203). Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan alınmıştır.

TARTIŞMA

Çalışmamızda ortaya çıkan ekspresyon düzey paterni genel olarak PH olgularında pro-apoptotik faktörlerin (PTEN, kaspaz-3 ve Aifm1) azaldığını, anti-apoptotik Akt yolağı ilişkili faktörlerin (Akt-1, Mdm2, DJ-1) ise arttığını düşündürmüştür. Bu bulguların PH'deki artmış oksidatif stres ve apoptotik nöron ölümünü telafi etmeye çalışan sağkalım mekanizmalarının etkinleşmesine bağlı olması mümkündür.

Hasta grupları arasındaki en belirgin fark ise PTEN ekspresyonunun PH olgularında azalırken, AK olgularında artması olmuştur. PTEN lokusunda bulunan mutasyonlar ve delesyonlar birçok kanserle ilişkili bulunmuştur (29). PTEN tümör baskılayıcı etkisini PIP₃'ü defosforile ederek ve böylece PI3K/Akt yolağını baskılayarak gösterir (30). Ayrıca çalışmamızda DJ-1'in ekspresyon düzeylerinde, PH olgularında sağlıklı kontrollere göre artma eğilimi görülmektedir. PTEN'in aşırı ekspresyonu birincil olarak hücre döngüsünü durdurarak, hücre büyümesini engeller (9). Dolayısıyla bulgularımız pro-apoptotik PTEN ekspresyonunun, PH olgularında artmış nöronal apoptozu azaltmak için azaldığını, AK olgularında ise kanser hücrelerinin apoptotik temizlenmesini artırmak amacıyla yükseldiğini düşündürmektedir.

AK olgularının pro-apoptotik ve anti-apoptotik gen ekspresyonlarında ve Akt yolağını düzenleyen PTEN ve IGF-1 faktörleriyle Akt yolağı faktörlerinin anlatımında, PH olgularındaki benzer bir korelasyon bulunmamaktadır. Örneğin, pro-apoptotik kaspaz-3, PTEN artarken diğer pro-apoptotik faktörlerden kaspaz-9 ve Aifm1 azalma eğilimi göstermiştir. Ayrıca AK olgularında PTEN ve IGF-1 ekspresyonu değişiklikleri Akt-1 ekspresyonunda belirgin değişikliğe yol açmamıştır. Bu bulgular PH'den farklı olarak AK olgularında sağkalım süreçlerinin sadece Akt-1 yolağı ile sınırlı olmayan daha karmaşık mekanizmalarla yönetildiğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda PH olgularında IGF-1 ekspresyon düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede artarken, α -sinüklein ekspresyon düzeyleri diğer gruplara göre azalma eğilimi göstermektedir. Bu bulgular da α -sinüklein ve IGF-1 moleküllerinin, aynı DJ-1 ve PTEN molekülleri gibi, PH olgularında artmış nöronal apoptozu baskılamak amacıyla kompensasyona yönelik ekspresyon değişikliğine uğradığını düşündürmektedir. PI3K/Akt yolağındaki genlerin ekspresyon düzeyleri PH olgularının klinik para-

metreleriyle karşılaştırıldığında, IGF-1 ile hastalık başlangıç yaşı arasında negatif korelasyon, ayrıca Hoehn-Yahr skoru ile IGF-1 geninin ekspresyon düzeyi arasında anlamlılığa yakın pozitif korelasyon saptandı. Bu bulgular IGF-1 ekspresyonunun klinik kötüleşme parametresi olarak kullanılabilirliğini düşündürmektedir. Ek olarak Aifm-1 ile Hoehn-Yahr skoru arasında korelasyon saptanması non-kaspaz apoptoz yollarının PH patogenezinde önemli rol oynadığını düşündürmektedir.

Sonuç olarak, PH olgularında pro-apoptotik PTEN ekspresyonunun düşmesi ve anti-apoptotik PI3K/Akt yolağının ekspresyonunun artması, PH'de artan nöronal yıkımı kompense etmek amacıyla anti-apoptotik yolların etkinleştiğini düşündürmektedir. Çeşitli PI3K/Akt yolağı ekspresyon düzeyleri ile klinik parametreler arasında korelasyon saptanması PH olgularında bu faktörlerin özüllülük ve prognoz belirteci olarak kullanılabilirliğini göstermektedir.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden alınmıştır (2012/1415-1203).

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - E.Ş., N.Y., E.T.; Tasarım - E.Ş., N.Y., E.T.; Denetleme - E.T.; Kaynaklar - E.Ş., N.Y., E.T.; Gereçler - E.Ş., N.Y., E.T.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - E.Ş., N.Y., E.T.; Analiz ve/veya Yorum - E.Ş., N.Y., E.T.; Literatür Taraması - E.Ş., N.Y., E.T.; Yazıyı Yazan - E.Ş., N.Y., E.T.; Eleştirel İnceleme E.T.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: 31110).

Ethics Committee Approval: Ethics Committee Approval was received for this study from the Ethics Committee of Istanbul University School of Medicine (2012/1415-1203).

Informed Consent: Written informed consent was obtained from the patients who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - E.Ş., N.Y., E.T.; Design - E.Ş., N.Y., E.T.; Supervision - E.T.; Resource - E.Ş., N.Y., E.T.; Materials - E.Ş., N.Y., E.T.; Data Collection and/or Processing - E.Ş., N.Y., E.T.; Analysis and/or Interpretation - E.Ş., N.Y., E.T.; Literature Search - E.Ş., N.Y., E.T.; Writing - E.Ş., N.Y., E.T.; Critical Reviews E.T.

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest to declare.

Financial Disclosure: This work was supported by the Research Fund of the İstanbul University (Project no: 31110).

KAYNAKLAR

- de Rijk MC, Tzourio C, Breteler MM, Dartigues JF, Amaducci L, Lopez-Pousa S, et al. Prevalence of parkinsonism and Parkinson's disease in Europe: the EUROPARKINSON Collaborative Study. European Community Concerted Action on the Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; 62: 10-5. [CrossRef]
- Van Den Eeden SK, Tanner CM, Bernstein AL, Fross RD, Leimpeter A, Bloch DA, et al. Incidence of Parkinson's Disease: Variation by Age, Gender, and Race/Ethnicity. *Am J Epidemiol* 2003; 157: 1015-22. [CrossRef]
- Hirsch E, Graybiel A, Agid Y. Melanized dopaminergic neurons are differentially susceptible to degeneration in Parkinson's disease. *Nature* 1988; 334(6180): 345-8. [CrossRef]
- Dias V, Junn E, Mouradian MM. The role of oxidative stress in parkinson's disease. *J Parkinsons Dis* 2013; 3: 461-91.
- Jansson B, Jankovic J. Low cancer rates among patients with Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1985; 17: 505-9. [CrossRef]
- Olsen J, Friis S, Frederiksen K. Malignant Melanoma and Other Types of Cancer Preceding Parkinson Disease. *Epidemiology* 2006; 17: 582-7. [CrossRef]
- D'Amelio M, Ragonese P, Morgante L, Epifanio A, Callari G, Salemi G, et al. Tumor diagnosis preceding Parkinson's disease: A case-control study. *Mov Disord* 2004; 19: 807-11. [CrossRef]
- Elbaz A, Peterson B, Yang P, Van Gerpen J, Bower J, Maraganore D, et al. Nonfatal cancer preceding parkinson's disease: a case-control study. *Epidemiology* 2002; 13: 157-64. [CrossRef]
- Kim R, Mak T. Tumours and tremors: how PTEN regulation underlies both. *Br J Cancer* 2006; 94: 620-4. [CrossRef]
- Cheng CM, Reinhardt RR, Lee WH, Joncas G, Patel SC, Bondy CA. Insulin-like growth factor 1 regulates developing brain glucose metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 10236-41. [CrossRef]
- Huang T, Verkhatsky A, Fernyhough P. Insulin enhances mitochondrial inner membrane potential and increases ATP levels through phosphoinositide 3-kinase in adult sensory neurons. *Mol Cell Neurosci* 2005; 28: 42-54. [CrossRef]
- Kim RH, Peters M, Jang Y, Shi W, Pintlilie M, Fletcher GC, et al. DJ-1, a novel regulator of the tumor suppressor PTEN. *Cancer Cell* 2005; 7: 263-73. [CrossRef]
- Yang Y, Gehrke S, Haque M, Imai Y, Kosek J, Yang L et al. Inactivation of Drosophila DJ-1 leads to impairments of oxidative stress response and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 13670-5. [CrossRef]
- Fallon L, Bélanger CM, Corera AT, Kontogianna M, Regan-Klapisz E, Moreau F, et al. A regulated interaction with the UIM protein Eps15 implicates parkin in EGF receptor trafficking and PI(3)K-Akt signalling. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 834-42. [CrossRef]
- Kim RH, Smith PD, Aleyasin H, Hayley S, Mount MP, Pownall S, et al. Hypersensitivity of DJ-1-deficient mice to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) and oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 5215-20. [CrossRef]
- Malagelada C, Jin ZH, Greene LA. RTP801 Is Induced in Parkinson's disease and mediates neuron death by inhibiting Akt phosphorylation/activation. *J Neurosci* 2008; 28: 14363-71. [CrossRef]
- Timmons S, Coakley MF, Moloney AM, O'Neill C. Akt signal transduction dysfunction in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2009; 467: 30-5. [CrossRef]
- Namikawa K, Honma M, Abe K, Takeda M, Mansur K, Obata T, et al. Akt/protein kinase B prevents injury-induced motoneuron death and accelerates axonal regeneration. *J Neurosci* 2000; 20: 2875-86. [CrossRef]
- D'Astous M, Mendez P, Morissette M, Garcia-Segura LM, Di Paolo T. Implication of the phosphatidylinositol-3 kinase/protein kinase B signaling pathway in the neuroprotective effect of estradiol in the

- striatum of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine mice. *Mol Pharmacol* 2006; 69: 1492-8. [\[CrossRef\]](#)
20. Ruan, H, Yang Y, Zhu X, Wang X, Chen R. Neuroprotective effects of (\pm)-catechin against 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) - induced dopaminergic neurotoxicity in mice. *Neurosci Lett* 2009; 450: 152-7. [\[CrossRef\]](#)
 21. Fukui M, Choi HJ, Zhu BT. Mechanism for the protective effect of resveratrol against oxidative stress-induced neuronal death. *Free Radic Biol Med* 2010; 49: 800-13. [\[CrossRef\]](#)
 22. Qin R, Li X, Li G, Tao L, Li Y, Sun J, et al. Protection by tetrahydroxystilbene glucoside against neurotoxicity induced by MPP+: The involvement of PI3K/Akt pathway activation. *Toxicol Lett* 2011; 202: 1-7. [\[CrossRef\]](#)
 23. Jiang H, Guo W, Liang X, Rao Y. Both the establishment and the maintenance of neuronal polarity require active mechanisms: Critical roles of GSK-3 β and its upstream regulators. *Cell* 2005; 120: 123-35. [\[CrossRef\]](#)
 24. Canet-Aviles RM, Wilson MA, Miller DW, Ahmad R, McLendon C, Bandyopadhyay S, et al. The Parkinson's disease protein DJ-1 is neuroprotective due to cysteine-sulfinic acid-driven mitochondrial localization. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101: 9103-8. [\[CrossRef\]](#)
 25. Zhang L, Shimoji M, Thomas B, Moore DJ, Yu SW, Marupudi NI, et al. Mitochondrial localization of the Parkinson's disease related protein DJ-1: Implications for pathogenesis. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 2063-73. [\[CrossRef\]](#)
 26. Blackinton J, Kumaran R, van der Brug MP, Ahmad R, Olson L, Galter D, et al. Post-transcriptional regulation of mRNA associated with DJ-1 in sporadic Parkinson disease. *Neurosci Lett* 2009; 452: 8-11. [\[CrossRef\]](#)
 27. Cohen AS, Lin DD, Quirk GL, Coulter DA. Dentate granule cell GABA receptors in epileptic hippocampus: Enhanced synaptic efficacy and altered pharmacology. *Eur J Neurosci* 2003; 17: 1607-16. [\[CrossRef\]](#)
 28. Ludwig A, Li H, Saarma M, Kaila K, Rivera C. Developmental up-regulation of KCC2 in the absence of GABAergic and glutamatergic transmission. *Eur J Neurosci* 2003; 18: 3199-206. [\[CrossRef\]](#)
 29. Ali IU, Schriml LM, Dean M. Mutational spectra of PTEN/MMAC1 gene: A tumor suppressor with lipid phosphatase activity. *J Nat Cancer Inst* 1999; 91: 1922-32. [\[CrossRef\]](#)
 30. Maehama T, Taylor GS, Dixon JE. PTEN and myotubularin: novel phosphoinositide phosphatases. *Annu Rev Biochem* 2001; 70: 247-79. [\[CrossRef\]](#)