



Parkinson Hastalığının Genetiği

Genetics of Parkinson's Disease

Bülent ELİBOL¹F. Belgin ATAÇ²

Özet

Bazı ailevi Parkinson hastalığı tiplerinde yakın zamanda sorumlu genlerin bulunması, hastalığın patogenezinde genetik faktörlerin önemli olabileceğine kuvvetli bir destek sağladı. Çevresel ve genetik faktörlerin göreceli riskleri hala tartışılmakla beraber, bu bulgular, ailevi agregasyonun varlığı ve son [18] F -PET ile gerçekleştirilen ikiz çalışmalarında monozygotik ikizlerde konkordansın zamanla artması ile birleşince genetik risk faktörlerinin belirgin ağırlık kazanmasına yol açtı. Bu derlemede yakın zamanda gerçekleştirilen klinik ve moleküler genetik çalışmalar ailevi Parkinson hastalığı formları üzerinde özellikle durularak özetlenmektedir. Şimdiye kadar tespit edilen alfa-sinüklein, parkin ve UHC-L1 (übikülin karboksi-terminal hidrolaz L1) genlerine ait mutasyonların Parkinson hastalığındaki muhtemel patojenik mekanizmaları ilişkili sonuçları tartışılmaktadır.

Anahtar kelimeler : Parkinson hastalığı, ailevi parkinsonizm, a-sinüklein, parkin, UHC-L1

Abstract

The recent discovery of genes responsible from some familial forms of Parkinson's disease (PD), has provided strong evidence for the possibility that genetic factors may play an important role in the pathogenesis of this disease. Although debate over the risks of environmental versus genetic factors still continues, these results together with the considerable rate of familial aggregation and recent findings of increasing concordance in monozygotic twins when studied by [18] F - PET over a period, favor the

genetic risk factors. In this review, we have summarized results of recent clinical and molecular genetic studies, with a special emphasis on the familial forms of PD. The implications of the identified mutations affecting the genes coding α -synuclein, parkin and UHC-L1 (ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1) were discussed in relation to the possible pathogenetic mechanism of PD.

Keywords : Parkinson's disease, familial parkinsonism, α -synuclein, parkin, UHC-L1

1. Giriş
2. Parkinson hastalığında genetik faktörlerin rolü ne kadar var?
 - 2.a. Epidemiyolojik çalışmalar
 - 2.b. İkiz çalışmaları
 - 2.c. Ailevi PH'da klinik ve moleküler genetik çalışmalar
3. Ailevi PH'nda bulunan mutasyonlar:
 - 3.a. PARK 1 Mutasyonları
 - 3.a.1. α -sinüklein ve fizyolojik önemi:
 - 3.a.2. α -sinüklein agregasyonu ve Lewy-cisimcik patolojisi:
 - 3.b. PARK 2 (PARKİN) Mutasyonu
 3. b.1. Parkin proteinin patofizyolojik önemi
 - 3.c. UCH-L1 mutasyonu
 - 3.d. Ailevi PH'da lokusu bulunan ancak tanımlanamayan diğer genler
4. Sonuç
5. Kaynaklar.

1 Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı

2 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

1. Giriş

Parkinson hastalığı (PH) yaşla ilişkili ortaya çıkan nörodejeneratif hastalıklar arasında, Alzheimer hastalığından sonra en sık (beyaz ırkta 65 yaşında %1, 95 yaşında %3'e ulaşıyor) oluşu ile toplum sağlığı açısından giderek önemli bir yer tutmaktadır.(1) Hastalık klinikte tremor, bradikinezi, rijidite ve postüral instabilite gibi motor belirtiler yanında, daha az oranda ve ileri devrede gelişebilen otonomik disfonksiyon ve kognitif yıkımla karakterizedir. Parkinson hastalığındaki selektif nöron kaybı özellikle substansiya nigradaki dopaminerjik hücrelerde olup, ilk klinik bulgunun ortaya çıkması bu nöronların %60-70'i kaybedildikten sonra, yani yaklaşık 5 yıllık prelinik bir dönemi takiben gerçekleşir (2). Parkinson hastalığı patolojik olarak, bu spesifik nöronal kayıp yanında hayatiyetini koruyan hücrelerin bir kısmında intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri ile (Lewy cisimciği -LC-) tanımlanır. Motor belirtilerin çoğu için giderek daha etkili medikal ve cerrahi tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine rağmen, nigral dopaminerjik hücre kaybının patogenezi anlaşılamadığı için hastalığın progresif seyrini etkileyecek herhangi bir koruyucu tedavi imkanı bulunamamıştır.

Yaklaşık bir asrı aşan süredir etyopatogeneze genetik ve çevresel faktörlerin etkinlikleri tartışılmış, zaman zaman bulgular bir tarafa daha ağırlık kazandırmakla beraber, genelde birbiri ile de etkileşen birden çok risk faktörünün Parkinson hastalığına yol açtığı kabul edilmiştir (3). Son yıllarda hız kazanan moleküler genetik çalışmalar pek çok hastalıkta olduğu gibi PH'nda da ibrenin açık olarak genetik faktörler tarafına kaymasına ve patojenez için doğrudan fikir verebilecek sonuçlara yol açmıştır. Bu yazıda PH'nın genetiğinde ulaşılan bilgiler tarihi gelişimi içinde ve patojenetik mekanizmalar üzerindeki olası sonuçları ile beraber özetlenmektedir.

2. Parkinson hastalığında genetik faktörlerin rolü ne kadar var?

Parkinson hastalığının etyolojisinde genetik katkı ile ilgili düşünceler geçen yüzyıl sonunda Charcot zamanına kadar uzanmaktadır (3). Ailevi agregasyon şeklindeki ilk gözlemler temel olarak üç koldan yapılan araştırmalarla destek bulunmuştur. Bunlar; epidemiyolojik çalışmalar, ikiz çalışmaları ve nihayet PH fenotipi gösteren ailelerde yapılan moleküler analizlerdir (4).

2.a Epidemiyolojik çalışmalar

Metodolojik problemlere rağmen yapılan pek çok kontrollü çalışma PH'nın hastaların yakın akrabalarında kontrol grubuna göre daha sık oranda görüldüğünü ortaya koymuştur. Klinikte takip edilen hastalara bakıldığında birinci veya ikinci derece akrabaların %20- 40'lara kadar varan oranlarda etkilendiği bulunmuş, popülasyon-temelli daha kontrollü çalışmalarda ise bu oranın %6' ya kadar düştüğü görülmüştür (5-7). Genel olarak ele alındığında PH'da ailevi agregasyonun %10-15 civarında olduğu, birinci derecede yakınarda relatif riskin Alzheimer hastalığına benzer şekilde normale göre 2-3 kat artmış olduğu kabul edilmiştir (4). Bu bulguların genetik bir yatkınlığa işaret etme yanında, benzer çevre şartlarına maruz kalma ile de ilgili olabileceği ileri sürülmüştür, ancak bulgular özellikle erken başlangıçlı hastaların önemli bir kısmında doğrudan genetik bir belirleyici faktörün olabileceği veya en azından genetik risk faktörlerinin rol oynadığına işaret etmektedir.

2.b İkiz çalışmaları

İkiz çalışmaları genetik faktörlerin bir hastalıkta rolü konusunda öteden beri oldukça güvenilir yöntem olmuştur. Klasik anlamda uygulandığında (kesitsel analizler olarak) PH'da monozygotik ve dizigotik ikizler arasında önemli bir fark bulunmaması, ilk planda sporadik PH'da genetik yatkınlığa karşı en kuvvetli delillerden biri olarak yorumlanmıştır (8,9). Ancak ilk çalışmalarda PH gibi yaşa bağımlı hastalıklarda beklenmesi gereken sublinik hastalık süreci dikkate alınmamıştır. Patolojik çalışmalar 70 yaşlarında klinikte %1 oranında görülen PH'nın, sublinik olarak yaklaşık % 10 oranına kadar bulunabileceğini göstermektedir (10). Gerçekten de monozygotik ikizler arasında hastalığın ortaya çıkması 30 yıla kadar gecikebilmektedir (11,12). Bu nedenle sublinik vakaları [18] F -PET tekniği ile ortaya koyan ve zaman içinde karşılaştırmalı olarak ele alan yeni çalışmalarda klinik ve PET kriterleri bir arada değerlendirildiğinde monozygotik ikizlerde konkordansın % 75'e kadar yükseldiği ortaya kondu (12). Bu bulgular PH'da genetik riskin varlığı konusunda kuvvetli delil olmak yanında hastalığın kalıtsal yönünün çeşitli çevresel faktörler ve/veya düşük penetranslı mutasyonlar nedeniyle uzun süre maskelenebileceğini de göstermektedir.



2.c Ailevi PH'da klinik ve moleküler genetik çalışmalar

PH'nın çoğunlukla sporadik görülmesi ve belli bir oranda ailevi agregasyon göstermesi yanında klinik ve patolojik kriterlerle kesin teşhis alan otozomal dominant kalımlı nadir ailelerin varlığı bir süredir bilinmektedir (13-15). Bu aileler son yıllarda büyük aşama gösteren moleküler analizler için çok önemli bir kaynak oldu. Aynı şekilde otozomal resesif kalımla geçen, fenotipik olarak erken başlangıçlı PH'na benzeyen ancak patolojide Lewy-cisimciklerinin (LC) görülmemesi ile atipik kabul edilen ve daha sık görülen aileler de yeni bir genin tanınmasına olanak sağladı. (16,17). Tablo 1'de gösterilen ailevi PH nedeni olan bu genlerin önemi ve tanınmalarıyla beraber hızla gelişen PH etyopatogenezinin ışık tutabilecek bulgulara geçmeden,

CYP1A ve CYP2E1) (18-20). Bazı çalışmalar ise çelişkili olmakla beraber düşük bir oranda da olsa kontrollere göre artmış hastalık riskini ortaya koydu (α 1-kimotripsin, CYP2D6 ve N-asetiltransferaz 2 - NAT2- polimorfizmleri). Bunlardan özellikle deb-rizokin 4- hidroksilaz geni (CYP2D6) çelişkili sonuçlar nedeniyle şüpheli olmasına, NAT-2 deki bulgular da yeni çalışmalarla desteklenme gereğine karşın, bulunan polimorfizmlerin enzim aktivitesinde yavaşlamaya yol açması olası zeno-biyotik detoksifikasyon defektine işaret ettiği için çevresel-genetik etkileşim hipotezlerini destekler olduğu düşünülmektedir (18, 21-23). Eğer mutant alleler detoksifikasyon sürecindeki her iki basamağı (aktivasyon ve konjügasyon) beraberce etkilerse (CYP2D6 ve GTSM1) PH riskinin 10-14 kata kadar yükselebildiği gösterilmiştir (18).

Tablo 1. Genetik lokalizasyonu saptanan Ailevi Parkinsonizm tipleri

Ailevi Parkinsonizm Tipi	Gen	Mutasyon
Otozomal dominant Parkinson H (PARK1)	4q21-q23 (α -synuclein)	A53T, Ala30Pro
Otozomal resesif Parkinsonizm (PARK2) (parkin)	6q27.1	eksonik delesyonlar, nokta mutasyonlar
Otozomal dominant Parkinson hastalığı (PARK3)	2p13	?
Otozomal dominant Parkinson hastalığı	4p	UHC-L1
Otozomal dominant PH /esansiyel tremor	4p15	?

daha önceden başlanan ve halen devam eden sporadik PH'na yol açabilecek olası genetik risk faktörleri ile ilgili çalışmalar ele alınacaktır:

PH'nın ileri yaşta ortaya çıkması, tüm birinci derece yakınların bulunamaması nedeniyle uygun genetik çalışma planını zorlaştırmaktadır. Buna rağmen şimdiye kadar biyokimyasal ve patolojik verilerden hareketle tespit edilen aday genler uygun ailelerde linkaj çalışmaları, küçük aileler veya sporadik PH popülasyonlarında allelelik polimorfizmler için asosiyasyon çalışmaları ile araştırılmıştır.

Linkaj çalışmalarında bakılan tüm aday genler (glutasyon peroksidaz, tirozin hidroksilaz, beyin-köklenli nörotrofik faktör, katalaz, amiloid prekürsör proteini, süperoksid dismutaz 1 ve 2) olumsuz sonuç vermiştir (18,19). Assosiyasyon çalışmalarında da sonuçlar genelde olumsuzdur (Apo E4, tirozin hidroksilaz, MAO-A, MAO-B, dopamin transporteri, D2, D3, ve D4 dopamin reseptörleri, glutasyon redüktaz M1 ve T1, sitokrom P450 enzim grubundan

Benzer amaçla mitokondriyal disfonksiyonla ilişkili olabilecek aday mitokondriyal veya nükleer genlerde de ayrıntılı asosiyasyon çalışmaları yapılmıştır. Bilindiği gibi, PH'da substansiya nigrada %30 civarında, diğer dokularda daha az oranlarda azalmış kompleks I aktivitesi bulunması, olası genetik veya sistemik toksik belirleyenlere işaret edebilir (24,25). 1-metil-4-fenil 1,2,2,6 tetradihropiridin (MPTP) nigral dopaminerjik nöronlarda PH benzeri selektif dejenerasyona kompleks I aktivitesini inhibe ederek yol açması ekzojen veya endojen benzer toksinlerin araştırılmasına neden olmuştur (22,26). Kesin bir sonuç alınamamakla beraber, halen PH patogenezinde çevresel etkenlerin ağırlıklı olduğu fikrini savunanlar özellikle bu bulgulara dayanmaktadır. Bu nedenle, genetik analizler de kompleks I ve ilgili moleküller üzerinde yoğunlaşmıştır. Bazı Parkinson hastalarına ait trombositlerindeki azalmış kompleks I aktivitesinin mitokondrisiz trombositlere transferi mitokondriyal DNA (mtDNA) defektlerine işaret olarak yo-

rumlanabilmektedir (24). mtDNA'da çok sayıda delesyon ve polimorfizmler, yine nükleer DNA'da çeşitli polimorfizmler tespit edilmekle beraber, ancak bazılarının az derecede bir risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (25). Buna rağmen, mitokondriyal defektlerin ek faktörler (oksidatif stres, toksinler gibi) varlığında semptomatik potansiyel kazanma olasılığı göz önüne alınarak, sporadik PH'da genetik risk faktörleri içinde mitokondri disfonksiyonuna neden olanların önemli olabileceği ileri sürülmektedir (24,25).

3. Ailevi PH'nda bulunan mutasyonlar

3.a PARK 1 Mutasyonları

İlk olarak Polymeropoulos ve ark. İtalyan orijinli geniş bir ailede otozomal dominant PH'dan etkilenen bireylerin hepsinin 4q21'de 6cM'lik bir bölgeyi kapsayan ortak bir haplotipi taşıdıklarını tespit etti (27). Yüksek penetranslı otozomal dominant geçiş gösteren bu aile, hastağın daha erken başlaması (59.7 yaşa karşılık 46 yaş), daha hızlı seyretmesi ve daha sık demans görülmesi gibi atipik özellikler göstermekle beraber, Lewy-cisimcikli nigral dejenerasyon nedeniyle sporadik PH spektrumu içinde kabul edildi (13). Kısa bir zaman içinde bu aile ve üç Yunan ailesinde (otozomal dominant geçişli erken-başlangıçlı PH gösteren daha küçük aileler) PH'dan sorumlu mutasyonun 4q21 'de lokalize a-sinüklein geninde üçüncü ekzonda G209A şeklinde olduğunu, söz konusu bu nokta mutasyonunda ilgili proteinde Ala53Thr dönüşmesine yol açtığı ortaya kondu. (28). Daha sonra tüm otozomal dominant geçişli ailelerde, hatta erken başlangıçlı ailevi agregasyon gösteren sporadik vakalarda bakılmasına rağmen bu mutasyon sadece ek olarak iki Yunan ailesi dışında hiç bir aile veya bireyde bulunamadı (29). Haplotip analizindeki belirsizlikler nedeniyle ortak bir kökenin hala olduğu bu aileler dışında, genin muhtemel diğer mutasyonları için yapılan tüm araştırmalarda da sadece bir Alman ailede Ala30Pro mutasyonu tespit edildi (30).

Bu heyecan verici buluşları takiben kısa sürede nöropatolojik ve biyokimyasal olarak a-sinükleinin PH'daki Lewy-cisimcikleri ve Lewy-cisimcikli demansdaki distrofik nöritlerin temel bileşeni olduğu ortaya kondu (31,32). Böylece a-sinükleinin genel olarak LC formasyonu ile giden tüm hastalıklarda (PH, diffüz Lewy-cisimcikli demans ve Alzheimer hastalığının Lewy -cisimcikli varyantında) nö-

rodejeneratif sürecinin önemli bir belirleyeni olabileceği iddia edildi. (32,33).

3.a.1. α -sinüklein ve fizyolojik önemi

α -sinükleinin patolojik süreçlerde rol alabileceği olasılığı ilk kez Alzheimer hastalığındaki amiloid plaklar içinde yer alan 35 amino asitlik bir proteinin (non A β component -NAC-) prekürsörü olduğunun anlaşılması ile ortaya çıkmıştır (34). α -sinüklein 140 aminoasitlik sekonder yapı göstermeyen kıvrılmamış bir protein olup kendiliğinden agregasyonla in vitro amiloid fibril oluşturabilir (35). Proteinin üç temel bölgesi vardır :1-N terminal bölgesi-ki her iki patojenik mutasyonun da buraya lokalize olması bu bölgenin LC formasyonunda kritik olduğunu gösteriyor,2-NAC bölgesi -hidrofobik olan bu bölge Alzheimer hastalığında amyloid agregasyonuna çekirdek teşkil ediyor, ve 3- C-terminal bölgesi (35).

α -sinüklein dışında sinüklein ailesinde iki protein daha bulunmaktadır. Bunlardan β -sinüklein 5q35 bölgesinde kodlanmakta olup α -sinüklein ile büyük ölçüde homoloji ve santral sinir sisteminde benzer bir dağılım göstermektedir. İlginç olarak α -sinüklein NAC bölgesinde delesyon gösterdiği için non-amiloidojenik bir nitelik kazanmıştır (32,35). Her iki proteinin benzer yapı ve dağılım göstermesinin fizyolojik önemi bilinmemekle beraber α -sinükleinin LC içinde yer almaması muhtemelen patolojik süreçlerle doğrudan ilgili olmadığına işaret etmektedir. İvazif tipte meme kanseri ile ilişkili olan ve 10q23'de kodlanan δ -sinüklein ise temel olarak periferik sinir sisteminde bulunmaktadır. Bu protein de LC içinde gösterilememiştir. α -sinükleinin insanda bilinen iki alternatif "splice" formu (C-terminalinden trunksiyonla olan 126 ve 112 amino asitlik formlar) çok daha az oranda eksprese olup, biyolojik önemleri henüz belirlenememiştir (32,35).

α -sinüklein presinaptik bir protein olarak bilinmektedir. Ultrastrüktürel çalışmalar söz konusu proteinin sinaptik veziküllerle ilişkili olduğunu, dolayısı ile nörotransmitter salınımı, geri alınımı ve hücre içi veziküler transportta rolü olabileceğini düşündürmektedir (32,35). Yakın zamanda α -sinüklein geni silinmiş farede dopamin salınımının aktivite-ilişkili olarak bozukluk gösterdiği ve striatal dopaminde azalma olduğunun bulunması α -sinükleinin dopamin nötransmisyonunda presinaptik, aktivite-ilişkili negatif bir regülatör ol-



duğunu ortaya koymuştur (36). Bu bulgular ailevi PH'da görülen mutasyonların toksik bir fonksiyon kazanma ile patojenetik olabileceği ihtimaline karşı, dominant-negatif bir etki ile de presinaptik patolojik kaskadı başlatabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca α -sinükleinin sinaptojenizde de rolü olabileceği ve α -sinüklein ile beraber fosfolipaz D2'nin inhibitörü olarak sinyal transduksiyon yollarında spesifik fonksiyonu olabileceği ileri sürülmüştür (32,37).

3.a.2 α -sinüklein agregasyonu ve Lewy-cisimcik patolojisi

α -sinükleinin LC'lerin temel bileşeni olduğu ortaya konduktan sonra proteinin değişik bölgelerine karşı hazırlanmış özgül antikolarla yapılan çalışmalarda LC içinde tüm yapısıyla veya kısmen kesilmiş halde bulunduğu ve hem kortikal hem nıgral LC'lerde temel yapı taşı olduğu anlaşıldı (31,32). Hatta α -sinükleinin LC'ler için übikütinden daha spesifik bir marker olarak kullanılabilmesi ortaya kondu. Diğer taraftan α -sinükleinin tüm LC hastalıklarındaki LC'lerinde bulunması yanında multipl sistemik atrofideki ve Hallervorden- Spatz hastalığındaki nöronal ve glial inklüzyonlarda, amiotrofik lateral sklerozda da bulunduğu gösterildi (38-40). Böylece nörodejeneratif hastalıkların bir grubu sinükleinopatiler adı altında kategorize edilirken benzer şekilde intrasellüler veya ekstrasellüler tau agregatları ile giden frontotemporal demanslar, progresif supranükleer paralizi gibi hastalıklar tapatiler adı altında gruplandırılmaya başlandı (41). Tüm bu patolojik süreçlerde ortak olarak α -sinükleinin veya taunun yanında übikütün ve pek çok başka moleküllerin de yer aldığı inklüzyon cisimcikleri bulunması, araştırmaları bunların agregasyon dinamikleri ile dejeneratif süreçlerin olası ilişkisine yöneltti.

In vitro çalışmalar doğal olarak kıvrılmamış ve çözünür halde bulunan α -sinüklein monomerlerinin çeşitli ısı, pH değişiklikleri ile agregate olabildiğini, bu taktirde oluşan filamentöz agregatların ultrastrüktürel olarak LC'indeki amyloid fibrillerine benzer olduklarını gösterdi (32,42). Ailevi PH'da bulunan her iki mutasyonun da (özelikle Ala53Thr tipi) α -sinükleinin in vitro şartlarda agregasyonunu kolaylaştırdığı saptandı (43-45). Agregasyonun ilk basamağı olan nükleasyonda ve daha sonraki fibril formasyonu basamaklarında bu ve benzeri yapısal değişmelerin ve/veya çevresel faktörlerin rol oy-

nadığı düşüncesi ile agregasyonu modüle edebilecek faktörler araştırıldı. α -sinüklein agregasyonunun in vitro olarak A β -protein, NAC fragmanı ve lipidlerle modüle edildiği bulundu (32,46). Çeşitli proteinlerin de patolojik şaperon gibi davranarak α -sinüklein agregasyonuna yol açabileceği öne sürüldü. Bu bağlamda α -sinükleinin sinfilin-1 olarak adlandırılan yeni bir proteinle ilişkili bulunması, LC'ler içinde kor bölgesinde yer alan ve hücre kültürlerinde inklüzyon yapımını artıran bu proteinin α -sinüklein agregasyonunda rol alabileceğini düşündürmektedir (47,48). α -sinükleinin proteolitik aktivite sonucu kısa (özellikle NAC fragmanını içeren kısım) fragmanlara bölünmesi, proteinin bu çekirdek yapı üzerinde agregasyonunu kolaylaştırabilir (32). Yine α -sinükleinin veziküller ve lipid membranlarla yakın ilişkisi benzer şekilde fosfolipid bağlanması ile oluşan konformasyonel değişikliklerin protein agregasyonuna yol açabileceğini düşündürmektedir (32,46).

Diğer taraftan PH patojenezinde öteden beri önemli delilleri bulunan oksidatif stres hipotezi ile bağlantılı olarak da α -sinüklein agregasyonunu kolaylaştıran nöron-spesifik faktörler araştırıldı. Bilindiği gibi dopaminerjik hücreler dopaminin nöromelanine otooksidasyonla dönüşümü ve dopamin metabolizması sırasında oluşan serbest radikaller nedeniyle daha fazla oksidatif yüke maruz kalmaktadır (49). Diğer taraftan serbest radikal katabolizmasında oluşan ferrik demirin α -sinükleinin agregasyonunu kolaylaştırdığı gösterildi (50). Benzer şekilde in vivo muhtemel bir modülatör olarak sitokrom C'nin de hidrojen peroksid varlığında α -sinükleinin agregasyonunda rol alabileceği ileri sürüldü (51). Bilindiği gibi sitokrom C mitokondri membranında bulunur ve apoptozisi indükleyen uyarılarla sitoplazmaya transloke olur. Bu da α -sinüklein agregasyonunun mitokondri disfonksiyonu ve nöronal apoptozisle ilişkili olabileceğini ortaya koymaktadır (32,51)

Tüm bu çalışmalar α -sinüklein agregasyonunun patojenetik bir rolü olma varsayımından hareketle yapılmış olmakla beraber, henüz amiloidogenesis ile nörotoksosite arasındaki ilişki net olarak anlaşılmış değildir. Alzheimer hastalığında öne sürüldüğü gibi PH'da da nörodejenerasyonun ilk bulgusunun sinaptik harabiyet ve kayıp olabileceği düşünülmektedir (52). Sinaptik harabiyeti tetikleyen mekanizmalardan biri amiloidojenik proteinlerin

toksik bir nitelik kazanmaları olabileceği için presnaptik terminallerde lokalize olan α -sinükleinin patolojik agregasyonu harabiyeti başlatan faktör olabilir.

Oysaki, yakın zamanda ortaya konan bazı bulgular, bunun aksine inklüzyon cisimciklerinin hücrel protektif bir mekanizmanın ürünleri olabileceğini telkin etmektedir. Huntington hastalığının transgenik modellerinde yapılan çalışmalar poliglutamin tekrar hastalıklarında saptanan intranükleer inklüzyonların patojenetik olmadığını, hatta oluşumları engellendiğinde hücrel yıkımın arttığını gösterdi (53). Bu durumda inklüzyon cisimciklerinin değil, ancak bunların oluşumunda temel rol oynayan monomerlerin yaptıkları oligomerlerin veya protofibrillerin nörotoksiteden sorumlu olabileceği ileri sürüldü. Inklüzyon cisimcikleri bu sürece karşı hücre tarafından geliştirilmiş koruma stratejisinin sonucu olabilirler (32,53). Gerçekten de PH'da LC'leri substansiya nigra da hayatiyetini koruyan hücrelerde görülür; bir çalışmada apoptotik hücre ölümü gösteren nöronlarda LC bulunmaması da bahsedilen hipotezi destekler niteliktedir (54). Son in vitro çalışmalar mutant veya doğal α -sinüklein monomerlerinin belli şartlarda fibril öncesi sırası ile küresel, zincir ve halkasal şekillerde oligomerler oluşturduğunu, mutant proteinlerde farklı olarak prefibriler oligomerleşmenin daha belirgin olduğunu ortaya koydu. (55). Bu nedenle gelecekteki potansiyel protektif tedavi stratejilerinin fibril gelişimine karşı değil, monomerlerin oligomerizasyonuna yönelik planlanması gerektiği ileri sürüldü. (55).

Bu bulgularla bağlantılı olarak PH patolojisinde kesin tanı kriteri olan LC'lerinin patojenetik sürecin kesin göstergesi değil, ancak dolaylı bir sonucu olduğu da ileri sürülebilir. Bu durumda PH ile benzer klinik seyir gösteren ancak patolojide LC bulunmadığı için tipik PH kabul edilemeyen çoğu erken başlangıçlı parkinsonizm vakalarında da benzer patojenetik yollar söz konusu olabilir.

3.b PARK2 (Parkin) Mutasyonları

Bu bağlamda parkinsonizmde ikinci tespit edilen genin (PARK2 :parkin) rolü sporadik PH'nı anlayabilmek için önem kazanabilir. Parkin mutasyonları otozomal resesif geçişli olan ve LC göstermeyen özel tipde bir parkinsonizme neden olmaktadır. (16,17,56). Bu ailevi parkinsonizm ilk

olarak Yamamura ve ark. tarafından Japonlarda erken yaşlarda başlaması (ortalama 25 yaş), yavaş ilerlemesi, semptomların diüurnal dalgalanmalar göstermesi, belirgin otonomik disfonksiyon ve kognitif kaybın gelişmemesi, levodopaya çok iyi ancak sık motor komplikasyonlarla cevap vermesi ile farklı bir klinikopatolojik antite olarak tanımlandı (16,57). Matsumine ve ark. 1997'de Japon ailelerinde sorumlu genin 6q25.2-27'de D65437-D65264 marker'ların arasındaki 17 cM'lık alana lokalize olduğunu, özellikle D65305 ve D65253 marker'larına yüksek oranda linkaj gösterdiğini buldular (17). Hemen arkasından benzer sonuçların iki Türk ailesinin de içinde bulunduğu üç farklı etnik kökenden ailelerde tespiti, ARJP'nin sadece Japon toplumuna özel olmadığını ilk belirtisi oldu (58).. Kısa sürede Kitada ve ark. bir Japon hastada D 65305 marker'ındaki delesyondan hareketle, pozisyonel klonlama tekniğini kullanarak ARJP'den sorumlu genin 500 kb'den büyük bir proteini kodlayan 12 eksonluk bir gen olduğunu buldular ve bu yeni gen ürünü "Parkin" olarak tanımladılar(59). Japon ailelerde tekli veya multipl eksonik delesyonların temel mutasyon tipi olduğunu gösteren çalışmaları, iki başka Türk ailesinde farklı nokta mutasyonların bulunması takip etti (59-61). Genin tanınmasından sonra kısa sürede çeşitli tipte parkin mutasyonlarının dünyada yaygın olarak pek çok ailede bulunduğu ortaya kondu (62-64). Japonlarda daha çok ekzonik delesyonlar, sıklıkta Japonları takip eden Türklere tekli ekzonik delesyonlar yanında nokta mutasyonları ve Avrupa kökenli çok sayıda ailede önemli oranda nokta mutasyonları, hatta son olarak duplikasyon ve tripplikasyonlar gibi ortaya konan genotipik çeşitlilik ile olası fenotipik farkların ilişkisi henüz araştırılmayı beklemektedir (61,64-66). Son bulgular ARJP'nin otozomal resesif geçişli PH ailelerinde sanılandan çok daha sık olduğunu ve başlama yaşının 58 yaşına kadar uzayabileceğini göstererek, otozomal resesif geçişli işaret eden Parkinson hastalarında parkin mutasyonlarının ilk planda araştırılması gerektiğini ortaya koymaktadır (64).

3.b.1 Parkin proteinin patofizyolojik önemi

Parkin mRNA'sın beyinde yaygın dağılımına karşın proteinin substansiya nigra da yoğun bulunması dopaminerjik hücrelerde önemli bir fonksiyonu olduğunu düşündürdü (59,67). Aynı zamanda bu hücrelerin Golgi komplekslerinde ve nöral uzantılarda lokalize olduğu gösterilmesi ile veziküler



transportta görevli olabileceği ileri sürüldü (67). Diğer taraftan, parkinin N-terminalinde übikütün benzeri bölge bulundurması ve Lewy cisimcikleri içinde übikütün ile beraber bulunuşu bu proteinin übikütün-proteozom yolunda görevli olabileceği düşüncesini uyandırmıştı (59). C-terminalinde bulunan iki "RING-finger" motifi ile übikütün konjuge edici enzime bağlanma potansiyelinin olması da bu ihtimali destekledi. Bilindiği gibi übikütün proteinler üzerinde poliübikütün zinciri oluşturarak 26S proteozomda degradasyonları için aracılık yapmaktadır. Bu işlem temel olarak üç enzimin rol aldığı ardısıra gelen reaksiyonlarla gerçekleşir: E1 (übikütün-aktive edici enzim), E2 (übikütün-konjuge edici enzim), E3 (übikütün-bağlayıcı enzim). Çok yakın zamanda parkinin E2 olarak Ubc7'yi bağlayan bir E3 enzimi olduğu, ve bu bağlanmanın C-terminalindeki her iki "RING-finger" motifi içeren bölgede gerçekleştiği gösterildi (68). N-terminalinin de henüz niteliği çözülemeyen bir proteini bağladığı anlaşıldı. Böylece parkin mutasyonlarının henüz tanımlanmayan bir hedef proteinin yıkımında azalmaya yol açtığı, bu şekilde agregatlar olmasa bile, toksik protofibrillerin birikimi ile nörodejeneratif süreci tetikleyebileceği ileri sürüldü (68).

3.c UCH-L1 mutasyonu

Ailevi PH'nda tespit edilen üçüncü gen mutasyonu da ilginç olarak übikütün yolu ile ilişkili bir protein olan übikütün karboksi-terminal hidrolaz L1 (UCH-L1)'i kodlayan 4p'de lokalize UCH-L1 geninde tespit edildi (69). Şimdiye kadar sadece bir Alman ailede tariflenen bu kısmi penetrans gösteren otozomal dominant geçişli parkinsonizmin klinik bulguları PH fenotipine uymakla beraber, patolojisi olmadığı için tipik LC pozitif PH olup olmadığı bilinmemektedir. Buna rağmen beyinde çok yaygın olarak bulunan ve deübikütinazyondan sorumlu olan UCH-L1'in LC'leri içinde de tespit edilmesi ve bu ailedeki Ile93Met mutasyonunun enzimin katalitik aktivitesini azaltmış olması PH patojenezi yönünden anlamlı bulunmuştur (69,70). α -sinüklein ve parkin mutasyonlarının düşündürdüğü şekilde burada da azalmış UCH-L1 aktivitesi ile bilinmeyen bir substratın toksik agregasyonu söz konusu olabilir.

3.d Ailevi PH'da lokusu bulunan ancak tanımlanamayan diğer genler

Bahsedilen üç gen dışında otozomal dominant seyirli PH'dan sorumlu iki gen lokusu daha sap-

tandı. Bunlardan ilki tipik PH klinik ve patolojik özelliklerini gösteren iki Alman ailede linkaj analizi ile 2p13'e lokalize edilen gen lokusudur (PARK3) (71). Henüz sorumlu gen bulunmamakla beraber, aynı coğrafi bölgede ailevi veya sporadik pek çok hastada benzer haplotipe rastlanmamıştır.

Aynı şekilde Amerikada otozomal dominant geçişli bir PH ailesinde bulunan 4p15'le lokalize haplotip bakılan diğer ailelerde gözlenmemiş olup, sorumlu genin tespiti beklenmektedir (72). İlginç olarak bu ailenin PH kliniği olmayan fakat esansiyel tremoru (ET) bulunan bazı fertlerinde de benzer haplotipin bulunması, çok uzun zamandır bilinen PH ve ET'un sık görülen ailevi birlikteliği için ilk moleküler delil olarak yorumlanmıştır (72).

4. SONUÇ

PH'nın genetiği ile ilgili olarak son yıllarda büyük heyecan uyandıran bu bulgular ilk planda hennüz ancak az sayıdaki ailevi PH vakalarının anlaşılmasına yarayacak deliller olarak ihtiyatla karşılanabilir. Ancak α -sinüklein örneğinde olduğu gibi, uzun süredir PH'nın patolojik marker olarak bilinen LC'nin yapısının yeni yönleriyle ortaya konması, PH'daki nörodejeneratif sürecin bu kanıtlar yardımı ile daha kolay çözümleneceği umudunu vermektedir. İlginç olarak şimdiye kadar tanımlanan her üç gene ait mutant proteinlerin farklı fizyolojik fonksiyonlarına rağmen, protein-protein ilişkilerinde ve bir şekilde protein degradasyon yolunda rol almaları ve hepsinin de LC içinde bulunabilmesi ortak bir patojenetik mekanizmayla ilgili olabileceğini düşündürmektedir (73). Henüz kesin bir sonuç için erken olmakla beraber, mevcut bulgular en azından ailevi PH'da seçici hücre kaybının toksik nitelikte bazı oligomerlerin veya protofibrillerin birikmesi ile tetiklenebileceğini düşündürmektedir. Sporadik PH'da ise bu mekanizmalarla etkileşen benzer veya başka genetik yatkınlık faktörlerinin, muhtemelen çevresel faktörlerle birlikte hastalık sürecine neden olduğu söylenebilir. α -sinükleinin promotör bölgesindeki bir polimorfizmin apolipoprotein E4 genotipi ile kombinasyonunda PH riskinin yaklaşık onüç kat artırdığının bulunması bu görüşü destekler niteliktedir (74). Bu bulguların daha kesin ve geniş delillerle desteklenmesi PH'da yakın zamanda rasyonel protektif tedavi stratejilerinin geliştirilmesi umudunu arttıracaktır.

5. KAYNAKLAR

- 1- Bennett, D.A., Beckett, L.A., Murray, A.M. et al. (1996) Prevalence Of Parkinsonian Signs And Associate Mortality In A Community Population Of Older People. *N. Engl. J. Med.* 334,71-76.
- 2- Poewe, W.H., Wenning, G.K. (1998) Natural History Of Parkinson's Disease *Ann Neurol* 44 (Suppl 1):1-9
- 3- Langston, W. (1998) Epidemiology Versus Genetics In Parkinson's Disease. *Ann Neurol* 44(suppl 1), S45-52.
- 4- Gasser, T. (1998) Genetics of Parkinson's Disease. *Ann Neurol* 44 (Suppl1), 53-57.
- 5- Payami, H., Larsen, K., Bernard, S., Nutt, J. (1994) Increased Risk Of Parkinson's Disease In Parents and Siblings Of Patients. *Ann Neurol* 36, 659-661.
- 6- Lazzarini, A.M., Myers, R.H., Zimmerman, T.R., Mark, M.H. et al (1994) A Clinical Genetic Study of Parkinson's Disease: Evidence for Dominant Transmission. *Neurology* 44, 499-506.
- 7- Marder, K., Tang, M.X., Alfaro, B., Mejia, H., Cote, L. et al (1996) Risk Of Parkinson's Disease Among First - degree Relatives. *American Acad. Of Neurol.* 47, 155-160.
- 8- Ward, C.D., Duvoisin, R.C., Ince, S. E., Nutt, J. D. (1983) Parkinson's Disease In 65 Pairs Of Twins and In A Set Of Quadruplets. *Neurology* 33, 815-824.
- 9- Viregge, P., Schiffke, K.A., Friedrich H.L., Müller, B. et al (1992) Parkinson's Disease In Twins. *Neurology* 42, 1453-1461.
- 10- Golbe, L.I. (1990) The Genetics Of Parkinson Disease: A Reconsideration *Neurology* 40 (Supl 3):7-14
- 11- Johnson, W.G., Hodge, S.E., Duvoisin, R. (1990) Twin Studies And The Genetics Of Parkinson's Disease-a reappraisal. *Mov Disord* 5(3) ,87-194.
- 12- Piccini, P., Burn, D.J., Ceravolo, R., Maraganore, D., Brooks, D.J. (1999) The Role Of Inheritance In Sporadic Parkinson's Disease:Evidence From A Longitudinal Study Of Dopaminergic Function In Twins. *Ann Neurol* 45,577-582.
- 13- Golbe, L.I., Giuseppe, I., Bonavita, V., Douglas, C.M., Duvoisin, R.C. (1990) A Large Kindred With Autosomal Dominant Parkinson's Disease. *Ann Neurol* 27, 276-282.
- 14- Waters, C.H., Miller, C.A. (1994) Autosomal Dominant Lewy Body Parkinsonism In A Four - Generation Family. *Ann Neurol* 35, 59-64.
- 15- Wszolec, Z.K., Pfeiffer, B., Fulgham, J.R. et al. (1995). Western-Nebbraska Family (family D) With Autosomal Dominant Parkinsonism. *Neurology* 45,502-505.
- 16- Yamamura, Y., Sobue, I., Ando, K., Iida, M. et al. (1973) Paralysis Agitans Of Early Onset With Marked Diurnal Fluctuation Of Symptoms. *Neurology* 23, 239-244.
- 17- Matsumine, H., Saito, M., Shimoda-Matsubayashi, S., Tanaka, H. et al. (1997) Localization Of A Gene For An Autosomal Recessive Form of Juvenile Parkinsonism (AR-JP) To Chromosome 6q25.2-27. *Am J Hum Genet.* 60, 588-596.
- 18- Wood, N.W. (1998) Genetic Risk Factors In Parkinson's Disease. *Ann Neurol* 44 (Suppl 1),58-62.
- 19- Bandmann, O., Marsden, C.D., Wood, N.W. (1998) Genetic Aspects Of Parkinson's Disease. *Mov Disord* 13, 203-211.
- 20- Markopoulou, K., Langston, W. (1999) Candidate Genes and Parkinson's Disease. *Neurology* 53, 1382-1383.
- 21- Sandy, M.S., Armstrong, M., Tanner, C.M., Daly, A.K. et al. (1996) CYP2D6 Allelic Frequencies In Young Onset Parkinson's Disease. *Neurology* 47, 225-230
- 22- Landi, M.T., Ceroni, M., Martignoni, E., Bertazi, P.A. (1996) Gene Environment Interactions In Parkinson's Disease. *Adv. Neurol.* 69, 61-72.
- 23- Diederich, N., Hilger, C., Goetz, C.G., et al. (1996) Genetic Variability Of The CYP 2D6 Gene Is Not A Risk Factor For Sporadic Parkinson's Disease. *Ann. Neurol.* 40, 463-465
- 24- Schapira, A.H.V., Gu, M., Taanman, J.W., Tabrizi, S.J., et al. (1998) Mitochondria In The Etiology and Pathogenesis Of Parkinson's Disease. *Ann Neurol* 44 (Suppl 1),89-98.
- 25- Mizuno, Y., Yoshino, H., Ikebe, S., Hattori, N., Kobayashi, T. et al. (1998) Mitochondrial Dysfunction In Parkinson's Disease. *Ann Neurol* 44 (Suppl 1), 99-109.
- 26- Langston, J.W., Ballard, P.A., Tetrud, J.W. et al. (1983) Chronic Parkinsonism In Humans Due To A Product Of Meperidine Analog Synthesis. *Science* 219, 979-980.
- 27- Polymeropoulos, M.H., Higgins, J.J., Golbe, L.I. et al. (1996) Mapping Of A Gene For Parkinson's Disease To Chromosome 4q21-q23. *Science* 274, 1197-1199.
- 28- Polymeropoulos, M.H., Lavedan, C., Leroy, E., Ide, S.H. et al. (1997) Mutations In the α -synuclein Gene Identified In Families With Parkinson's Disease. *Science* 276, 2045-2047.
- 29- Polymeropoulos, M.H. (1998) Autosomal Dominant Parkinson's Disease And α -synuclein. *Ann Neurol* 44 (Suppl 1),63-64.
- 30- Krüger, R., Kuhn, W., Müller, T., Woitalla, D., Graeber, M. et al. (1998) Ala30Pro Mutation In The Gene Encoding α -synuclein In Parkinson's Disease. *Nature Gen.* 18,106-108.
- 31- Baba, M., Makajo, S., Tu, P., Tomita, T. et al. (1998) Aggregation Of α -synuclein in Lewy Bodies of Sporadic Parkinson's Disease and Dementia With Lewy Bodies. *Am J Pathol.* 152, 879-884.
- 32- Hashimoto, M., Masliah, E. (1999) Alpha - synuclein In Lewy Body Disease and Alzheimer's Disease. *Brain Pathology* 9, 707-720.
- 33- Takeda, A., Mallory, M., Sundsmo, M., Honer, W. et al. (1998) Abnormal Accumulation Of NACP/ α -synuclein in Neurodegenerative Disorders. *Am. J.Pathol.* 152, 367-372.
- 34- Ueda, K., Fukushima, H., Masliah, E., Xia, Y. et al. (1993) Molecular Cloning Of A Novel Component Of Amyloid In Alzheimer's Disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 11282-11286.
- 35- Clayton, D.F., George, J.M. (1998) The Synucleins : A Family Of Proteins Involved In Synaptic Function , Plasticity , Neurodegeneration and Disease. *TINS* 21, 249-254.
- 36- Abeliovich, A., Schmitz, Y., Farinas, I., Choi-Lundberg, D. et al. (2000) Mice Lacking α -synuclein Display Functional Deficits In The Nigrostriatal Dopamine System. *Neuron* 25, 239-252.
- 37- Jenco, J., Rawlison, A., Daniels, B., Morris, A. (1998) Regulation Of Phospho Lipase D2. *Biochemistry* 37, 4901-4909.
- 38- Wakabayashi, K., Yoshimoto, M., Tsuji, S., Takahashi, H. (1998) α -synuclein Immunoreactivity In Glial Cytoplasmic Inclusions In Multiple System Atrophy. *Neurosci Lett.* 249,180-182.
- 39- Dickson, D.W., Lin, W-L., Liu, W-K., Yen, S-H. (1999) Multiple System Atrophy: A Sporadic Synucleinopathy. *Brain Pathol.* 9, 721-732.
- 40- Arima, K., Ueda, K., Sunohara, N., Arakawa, K. et al. (1998) NACP/ alpha -synuclein Immunoreactivity In Fibrillary Components Of Neuronal And Oligodendroglial Cytoplasmic Inclusions In The Pontine Nuclei In Multiple System Atrophy. *Acta Neuropathol.* 96, 439-444.
- 41- Hardy, J., Gwinn-Hardy, K. (1998) Genetic Clas-



- sification Of Primary Neurodegenerative Disease. *Science*. 282,175-1079.
- 42- Hashimoto, M., Hsu, L.J., Sisk, A., Xia, Y. (1998) Human Recombinant NACP/alpha-synuclein Is Aggregated and Fibrillated In-vitro : Relavance For Lewy Body Disease *Brain Res*. 799, 301-306.
 - 43- Conway, K.A., Harper, J.D., Lansbury, P.T. (1998) Accelerated In-vitro Fibril Formation By A Mutant Alpha - synuclein Linked To Early - Onset Parkinson's Disease. *Nature Med*. 4, 1318-1320.
 - 44- Giasoson, B.I, Uryu, K., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M. (1999) Mutant And Wild Type Human Alpha-synucleins Assemble Into Elongated Filaments With Distinct Morphologies In-Vitro . *J. Biol Chem*. 274, 7619-7622.
 - 45- Narhi, L., Wood, S.J., Steavenson, S., Jiang, Y., Wu, G.M. et al. (1999) Both Familial Parkinson's Disease Mutations Accelerate α -synuclein Aggregation. *J. Biol Chem*. 274, 9843-9846.
 - 46- Davidson, W.S., Jonas, A., Clayton, D.F., George, J.M. (1998) Stabilization Of α -synuclein Secondary Structure Upon Binding To Synthetic Membranes. *J Biol Chem*. 273, 9443-9449.
 - 47- Engelender, S., Kaminsky, Z., Guo, X.S., Sharp, A.H. et al. (1999) Synphilin-1 Associates With Alpha-synuclein and Promotes The Formation Of Cytosolic Inclusions. *Nature Genet* . 22,110-114.
 - 48- Wakabayashi, K., Engelender, S., Yoshimoto, M., Tsuji, S. et al. (2000) Synphilin-1 Is Present In Lewy Bodies In Parkinson's Disease. *Ann Neurol*. 47, 521-523.
 - 49- Jenner, P., Olanow, W. (1998) Understanding Cell Death In Parkinson's Disease., 44 (suppl 1), S72-84.
 - 50- Hashimoto, M., Hsu, L.J., Xia, Y., Takeda, A. et al. (1999) Oxidative Stress Induces Amyloid-like Aggregate Formation of NACP/alpha-synuclein In-vitro. *Neuro Report*. 10, 717-721.
 - 51- Hoshimoto M., Takeda A., Hsu L., Takenouchi T. et al. (1999) Role of Cytochrome c as a Stimulator of Alpha-synuclein Aggregation in Lewy Body Disease, *J. Biol Chem*. 274 (41), 28849-28852
 - 52- Mashliah, E., Mallory, M., Hansen, L., Alford, M., et al. (1994) Synaptic and Neuritic Alterations During The Progression Of Alzheimer Disease. *Neurosci. Lett*. 174 67-72
 - 53- Saudou, F., Finkbeiner, S., Devys, D., Greenberg, M.E. (1998) Huntingtin Acts In The Nucleus To Induce Apoptosis But Death Does Not Correlate With The Formation Of Intranuclear Inclusions. *Cell*. 95, 55-66.
 - 54- Tompkins, M.M., Basgal, I E.J., Zamrini, E., Hill, W.D. (1997) Apoptotic-like Changes in Lewy-Body-associated Disorders and Normal Aging In Substantia Nigral Neurons. *Am J Pathol* . 150,119-131.
 - 55- Conway, K.A., Lee, S.J., Rochet, J.C., Ding, T.T., Williamson, R.E. et al. (2000). Acceleration of Oligomerization, Not Fibrillization is A Shared Property of Both alpha-synuclein Mutations Linked To Early-Onset Parkinson's Disease:Implications For Pathogenesis and Therapy. *Proc Nat. Acad Sci U S A*. 97(2), 571-6.
 - 56- Mori, H., Kondo, T., Yokochi, M., Matsumine, H., Nakagawa-Hattori Y., et al. (1998) Pathologic and Biochemical Studies Of Juvenil Parkinsonism Linked To Chromosome 6q *Neurology* 51:890-892
 - 57- Ishikawa, A., Tsuji, S. (1996) Clinical Analysis Of 17 Patients In 12 Japanese Families With Autosomal-recessive Type Juvenile Parkinsonism. *Neurology*. 47, 160-167.
 - 58- Jones, A.C., Yamamura, Y., Almasy, L., Bohlega, S., Elibol B. et al. (1998) Autosomal Recessive Juvenile Parkinsonism Maps To 6q25.2-q27 In Four Ethnic Groups: Detailed Genetic Mapping Of The Linked Region. *Am J. Hum. Genet*. 3(1):80-87.
 - 59- Kitada, T., Asakawa, S., Hattori, N., Matsumine, H., et al. (1998) Mutations In The Parkin Gene Cause Autosomal Recessive Juvenile Parkinsonism. *Nature*. 392,605-608.
 - 60- Hattori, N., Matsumine, H., Asakawa, S., Kitada, T., Yoshino, H., Elibol, B. et al.(1998) Point Mutations (Thr240Arg and Ala311Stop) In The Parkin Gene. *Biochem Biophys Res Commun*; 249(3),754-758.
 - 61- Hattori, N., Kitada, T., Matsumine, H., Asakawa, S. et al. (1998) Molecular Genetic Analysis Of A Novel Parkin Gene In Japanese Families With Autosomal Recessive Juvenile Parkinsonism:Evidence For Variable Homozygous Deletions In The Parkin Gene In Affected Individuals. *Ann Neuro*.l 44, 935-941.
 - 62- Abbas, N., Lücking, C.B., Ricard, S., Dürr, A. et al. (1999) A Wide Variety Of Mutations In The Parkin Gene Are Responsible For Autosomal Recessive Parkinsonism In Europe. *Hum Mol Genet*. 8(4), 567-574.
 - 63- Leroy, E., Anastasopoulos, D., Konitsiotis, K. et al. (1998) Deletions In The Parkin Gene and Genetic Heterogeneity In a Greek Family With Early Onset Parkinson's Disease. *Hum Genet*. 103, 424-427.
 - 64- Lücking, C.B., Dürr, A., Bonifati, V., Vaughan J. et al. (2000) Association Between Early-Onset Parkinson's Disease and Mutations In The Parkin Gene. *New Eng J Med*. 342(21),1560-1567
 - 65- Elibol B., Hattori N., Ataç FB., Saka E., Mizuno Y. (2000) Distinguishing Clinical Features Of Patients With Parkin Gene Mutations. *Neurology*. 54 (Suppl 3):A444 (abst)
 - 66- Ataç, F.B., Elibol, B., Hattori, N., Zhang, J. et al. (2000) Molecular Analysis Of Turkish Families With Parkin Gene Mutation. *Movement Disorders*. 15 (Sup. 3), 199.
 - 67- Shimura, H., Hattori, N., Kubo, S., Yoshikava, M. et al. (1999) Immunohistochemical and Subcellular Localisation of Parkin Protein. *Ann Neurol*. 1 45(5), 668-672.
 - 68- Shimura, H., Hattori, N., Kubo, S., Mizuno, Y. et al. (2000) Familial Parkinson Disease Gene Product, Parkin, Is An Ubiquitin-protein Ligase. *Nature Genet*. 25 (3), 302-305.
 - 69- Leroy, E., Boyer, R., Auburger, G., Leube, B. et al. (1998) The Ubiquitin Pathway in Parkinson's Disease. *Nature*. 395, 41-452.
 - 70- Lowe, J., McDermott, H., Landon, M., Mayer, R.J. et al. (1990) Ubiquitin Carboxyl Terminal Hydrolase Is Selectively Present In Ubiquitinated Inclusion Bodies Characteristic Of Human Neurodegenerative Disease. *J. Pathol*. 161 ,153-160.
 - 71- Gasser, T., Myhsok-Müller, B., Wszolek, K., Oehlmann, R. et al. (1998) A Susceptibility Locus For Parkinson's Disease Maps To Chromosome 2p13. *Nature Genetics*. 18, 262-265.
 - 72- Farrer, M., Gwinn-Hardy, K., Muentner, M., DeVrieze, FW. et al. (1999) A Chromosome 4p Haplotype Segregating With Parkinson's Disease and Postural Tremor. *Hum Mol Genet* . 8(1), 81-85.
 - 73- Solano, S., Miller, D.W., Augood, S.J., Young, A.B., Penney, J.B. (2000) Expression Of (-synuclein, Parkin, and Ubiquitin Carboxy-Terminal Hhydrolase L1 mRNA In Human Brain:Genes Associated With Familial Parkinson's Disease. *Ann Neurol*. 47, 201-210.
 - 74- Krüger, R., Vieira-Saecker, A.M.M., Kuhn, W., Berg, D. et al. (1999) Increased Susceptibility To Sporadic Parkinson's Disease By A Certain Combined (-synuclein/apolipoprotein E genotype. *Ann Neurol* . 45, 611-617.