



T.C.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**RELAPSİNG REMİTTİNG MULTİPL SKLEROZ (RRMS)  
HASTALARINDA KEFİR GIDA TAKVİYESİNİN SERUM  
SİTOKİN SEVİYELERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

AHMET SÜZEN

SİNİRBİLİM ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. ERKİNGÜL BİRDAY

İSTANBUL-2018

## TEZ ONAY FORMU

**Kurum** : İstanbul Medipol Üniversitesi  
**Programın Seviyesi** : Yüksek Lisans (X) Doktora ( )  
**Anabilim Dalı** : Sinirbilim  
**Tez Sahibi** : Ahmet SÜZEN  
**Tez Başlığı** : Relapsing Remitting Multipl Skleroz(RRMS) Hastalarında  
Kefir Gıda Takviyesinin Serum Sitokin Seviyelerine  
Etkisinin İncelenmesi  
**Sınav Yeri** : Medipol Mega Üniversite Hastanesi  
**Sınav Tarihi** : 25.12.2018

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve nitelik yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

### Danışman

Doç.Dr.Erkingül BİRDAY

### Kurumu

İstanbul Medipol Üniversitesi

### İmza



### Sınav Jüri Üyeleri

Prof.Dr.Lütfü HANOĞLU

İstanbul Medipol Üniversitesi

Prof.Dr.Erdem TÜZÜN

İstanbul Üniversitesi



Yukarıdaki jüri kararıyla kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 03./01/2019 tarih ve 2019./...01 - ...06 sayılı kararı ile şekil yönünden Tez Yazım Kılavuzuna uygun olduğu onaylanmıştır.

Prof.Dr. Neslin EMEKLİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içerisinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

AHMET SÜZEN



## TEŞEKKÜR

Çalışma konusunun belirlenmesinden itibaren bana her aşamada yardımcı olan, klinik çalışmaları bizzat yürüten ve çalışmanın gerçekleştirilmesinde değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam poliklinikteki oldukça yoğun mesaisine rağmen kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve ilgiyle yardımcı olan danışman hocam Sn. Doç.Dr. Erkingül BİRDAY'a teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Yine çalışmamda; teze hazırlık ve proje başvuru sürecinde bilgilerini, tecrübelerini ve değerli zamanını esirgemeyerek yol gösterici olan Medipol Üniv. Tıp Fak. Nöroloji A.D. öğretim üyesi Sn. Prof.Dr. Lütfü HANOĞLU'na teşekkür etmek istiyorum.

İstatistik analizlerimizi yaparak çalışmamıza önemli katkı sağlayan Medipol Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO Müdürü Sn. Prof.Dr. Hanefi Özbek'e de teşekkürü bir borç bilirim.

Deneylerin yürütülmesinde laboratuvar imkan ve olanaklarını bize sunan Medipol Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya A.D. öğretim üyesi Sn. Prof.Dr. Türkan YİĞİTBAŞI'na ve aynı A.D. dan Sn. Öğr. Görevlisi Çağrı ÇAKICI'a laboratuvar çalışmalarındaki kıymetli yardımlarından ötürü teşekkür ederim.

Diğer jüri hocalarım İstanbul Üniv. DETAE Sinir Bilim A.D başkanı Sn. Prof.Dr. Erdem TÜZÜN, Koç Üniversitesi Hastanesi Nöroloji A.D'dan Sn. Doç.Dr. Ebru Nur YAVUZ ve Medipol Üniv. Fizyoloji A.D'dan Sn. Prof.Dr. Zübeyir BAYRAKTAROĞLU'na değerli geri bildirimleri için teşekkür ederim.

Medipol Mega Hastanesi Biyokimya Laboratuvar Şefi Sn. Dr. Öğr. Üyesi Gözde ÜLFER ve ekibine hasta örneklerinin muhafazasını sağladıkları için ve ayrıca hastalardan kan alım işlemini gerçekleştiren hemşire Sn. Pınar KÜÇÜK'e teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde pay sahibi olan aileme ve dostlarıma da teşekkürlerimi sunarım.



*Sağlık alışanlarına...*

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

TEZ ONAYI .....	i
BEYAN .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İTHAF .....	iv
ŞEKİL VE TABLOLAR LİSTESİ .....	v
1-ÖZET .....	1
2-ABSTRACT .....	2
3-GİRİŞ VE AMAÇ .....	3
4-GENEL BİLGİLER .....	5
4.1. Multipl Skleroz .....	5
4.1.1. MS İmmünolojisi .....	7
4.1.2. Multipl Skleroz Tipleri .....	8
4.1.3. Multipl Skleroz ve Belirtileri .....	9
4.1.4. Multipl Sklerozda Tanı .....	10
4.2. Sitokinler .....	12
4.2.1 IL-6 .....	14
4.2.2 IL-10 .....	14
4.2.3 IL-17.....	15
4.3 Probiyotik .....	15
4.4 Kefir .....	16
4.5 MS'e yönelik probiyotik takviyesi terapötik çalışmalar .....	18
4.6 MS ve gut mikrobiyom ilişkisine dikkat çeken çalışmalar .....	18
5-MATERYAL VE METOT .....	20
5.1 Bilgilendirme ve Onam .....	20
5.2 Değerlendirme .....	21
5.3 Power analiz .....	21
6-BULGULAR .....	33
7-TARTIŞMA .....	44

<b>8-SONUÇ</b> .....	<b>47</b>
<b>9-KAYNAKLAR</b> .....	<b>52</b>
<b>10-EKLER</b> .....	<b>59</b>
<b>11-ETİK KURUL ONAYI</b> .....	<b>62</b>
<b>12-ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>65</b>



## TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo-4.1</b> Revize 2017 McDonald Kriterleri .....	10
<b>Tablo-4.2</b> Multipl Skleroz Patogenezine Katkıda Bulunan Sitokinler .....	12
<b>Tablo-4.3</b> Kefirin Kimyasal Bileşimi .....	16
<b>Tablo 5.1</b> EDSS Kriterleri .....	21
<b>Tablo 6.1</b> Deney Grubu Klinik ve Demografik Bilgiler .....	33
<b>Tablo 6.2</b> Kontrol Grubu Klinik ve Demografik Bilgiler .....	34
<b>Tablo 6.3</b> Deney Grubu IL-6 O.D ve serum konsantrasyon değerleri .....	35
<b>Tablo 6.4</b> Kontrol Grubu IL-6 O.D ve serum konsantrasyon değerleri .....	36
<b>Tablo 6.5</b> IL-6 Standard Dilüsyonlarının O.D Değerleri .....	37
<b>Tablo 6.6</b> Deney Grubu IL-10 O.D ve serum konsantrasyon değerleri .....	38
<b>Tablo 6.7</b> Kontrol Grubu IL-10 O.D ve serum konsantrasyon değerleri .....	39
<b>Tablo 6.8</b> IL-10 Standard Dilüsyonlarının O.D Değerleri .....	40
<b>Tablo 6.9</b> Deney Grubu IL-17a O.D ve serum konsantrasyon değerleri .....	41
<b>Tablo 6.10</b> Kontrol Grubu IL-17 O.D ve serum konsantrasyon değerleri .....	42
<b>Tablo 6.11</b> IL-17 Standard Dilüsyonlarının O.D Değerleri .....	43
<b>Tablo 8.1</b> IL-6 için Grup İstatistikleri .....	47
<b>Tablo 8.2</b> IL-6 için Test İstatistikleri .....	47
<b>Tablo 8.3</b> IL-10 için Grup İstatistikleri .....	48
<b>Tablo 8.4</b> IL-10 için Test İstatistikleri .....	48
<b>Tablo 8.5</b> IL-17 için Grup İstatistikleri .....	49



<b>Tablo 8.6</b> IL-17 için Test İstatistikleri .....	49
<b>Tablo 8.7</b> Fark(IL-6) için Grup İstatistikleri .....	50
<b>Tablo 8.8</b> Fark(IL-6) için Mann-Whitney U Test İstatistikleri .....	50
<b>Tablo 8.9</b> Fark(IL-10) için Grup İstatistikleri .....	50
<b>Tablo 8.10</b> Fark(IL-10) için Mann-Whitney U Test İstatistikleri .....	51
<b>Tablo 8.11</b> Fark(IL-17) için Grup İstatistikleri .....	51
<b>Tablo 8.12</b> Fark(IL-17) için Mann-Whitney U Test İstatistikleri .....	51

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.1: Multipl Skleroz Patolojisi .....	6
Şekil 4.2: Multipl Skleroz İçin Hastalık Modifiye Edici Tedaviler .....	7
Şekil 4.3: Multipl Skleroz Tipleri .....	9
Şekil 6.1: IL-6 Standard Eğrisi .....	37
Şekil 6.2: IL-10 Standard Eğrisi .....	40
Şekil 6.3: IL-17 Standard Eğrisi .....	43



## 1. ÖZET

### RELAPSİNG REMİTTİNG MULTİPL SKLEROZ (RRMS) HASTALARINDA KEFİR GIDA TAKVİYESİNİN SERUM SİTOKİN SEVİYELERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Multipl Skleroz (MS); enflamasyon, demiyelinizasyon ve akson hasarı ile karakterize otoimmün bir santral sinir sistemi hastalığıdır. Normalde proenflamatuar (Th<sub>1</sub>/Th<sub>17</sub>) ve antienflamatuar (Th<sub>2</sub>) sitokinler arasında ince bir denge söz konusudur. MS'te bu denge proenflamatuar sitokinler lehine bozulmuştur. Proenflamatuar sitokinlerde (IL-6/IL-17) azalma, antienflamatuar sitokinlerde (IL-10) artış sağlanmasının MS'te prognoza olumlu etkisi olacaktır. Bu çalışmanın amacı, kefirin immun-sistem hücrelerine etki edip sitokinler yoluyla bir modülasyon/antienflamatuar etki sağlayarak MS tedavisine ek olarak olumlu katkı yapıp yapamayacağını araştırmaktır. Eş Zamanlı/Kontrollü bir çalışma yapılmıştır. McDonald kriterine göre RRMS tanısı alan, Genişletilmiş Özur Durum Ölçeği(EDSS) 5.5'in altında olan ve atak döneminde olmayan hastalar çalışmaya dahil edildi. Deney Grup (iki ay süreyle kefir gıda takviyesi alan) (n=21) ve Kontrol Gruptaki (kefir almayan) (n=22) hastalardan 0. ve 60. gün serum örnekleri alınıp IL-6, IL-10 ve IL-17 ölçümleri ELISA yöntemiyle yapılmıştır. İstatistiksel analizler SPSS paket programında yapılmıştır; ortalama olarak kefir içen grupta **IL-6** 4,89 pg/mL(p:0,001) ve **IL-17** 0,44 pg/mL(p:0,001) azalmış iken **IL-10** 2,41 pg/mL(p:0,027) artmış olarak saptandı ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ayrıca bu fark değerleri her üç IL için kontrol gruptaki farklara göre de anlamlı bir değişim göstermiştir; “Fark (IL-6)” için p=0,002; “Fark (IL-10)” için p=0,013; “Fark (IL-17)” için p=0,00'dır. Bu çalışma sonucunda kefir içen grupta proenflamatuar sitokinde azalma, antienflamatuar sitokinde artış saptanmış olması hastalığın prognozunda önemli katkı sağlayabileceği, bu doğrultuda kefirin MS hastalarının diyetinde faydalı olabileceği, tedaviye ek olarak kullanılmasının önerilebileceği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Interlökin-6, Interlökin-10, Interlökin-17, Kefir, Relapsing Remitting Multiple Skleroz(RRMS).

Bu tez, 2017/14 proje no ile **İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOMİSYONU** tarafından desteklenmiştir.

## 2. ABSTRACT

### **OBSERVATION ON IMPACT OF KEFIR FOOD SUPPLEMENT ON SERA CYTOKINES LEVELS OF RELAPSING-REMITTING MULTIPLE SCLEROSIS (RRMS) PATIENTS**

Multiple Sclerosis (MS) is an autoimmune central nervous system disease characterized by inflammation, demyelination and axon damage. Normally, there is a fine balance between proinflammatory (Th<sub>1</sub>/Th<sub>17</sub>) and anti-inflammatory (Th<sub>2</sub>) cytokines. In MS, this balance is impaired in favor of proinflammatory cytokines. A decrease in proinflammatory cytokines (IL-6/IL-17), an increase in anti-inflammatory cytokines (IL-10) would have a positive effect on the prognosis of MS. The aim of this study is to investigate whether the kefir acts as an adjunct to MS therapy by providing a modulation/anti-inflammatory effect through cytokines. A simultaneous/ controlled study was performed. Patients who were diagnosed with RRMS according to McDonald criteria and who had EDSS below 5.5 and who did not have an episode of seizure were included in the study. Serum samples of patients in experiment group (taking kefir food supplement for two months) (n = 21) and control group (non-kefir takers) (n = 22) on day 0 and 60 were collected and IL-6, IL-10 and IL-17 measurements were performed by ELISA. Statistical analysis was performed in SPSS package program. On average, in the experiment group **IL-6** was decreased as 4.89 pg/mL (p: 0.001) and **IL-17** was decreased as 0.44 pg/mL (p: 0.001) while **IL-10** was increased as 2.41 pg/mL (p: 0.027) and results are statistically significant. Furthermore, these difference values showed a significant change for all three ILs compared to the differences in the control group; p=0.002 for the "Difference(IL-6)", p=0.013 for the "Difference(IL-10)" and p=0.00 for the "Difference(IL-17)". As a result of this study, it has been concluded that decrease in proinflammatory cytokines and increase in antiinflammatory cytokine could be important in the prognosis of the kefir group, and that kefir could be beneficial in the diets of MS patients.

**Key Words:** Interleukin-6, Interleukin-10, Interleukin-17, Kefir, Relapsing Remitting Multiple Sclerosis (RRMS).

This thesis was supported by **ISTANBUL MEDIPOL UNIVERSITY SCIENTIFIC RESEARCH PROJECTS COMMISSION** with project no 2017/14.

### 3. GİRİŞ VE AMAÇ

“MS; kronik, immün sistem aracılı, demiyelinizasyon ve aksonal hasarla giden bir santral sinir sistem (SSS) bozukluğudur. MS’te beyin ve spinal kordda oluşan demiyelinizan plaklar piramidal, duyusal, serebellar, beyinsapı ve otonomik disfonksiyona neden olabilmektedir. Dünyada MS tanısı almış yaklaşık 2,5 milyon birey olduğu bildirilmektedir (1,2).

MS, yaşam kalitesini oldukça düşürür ve dahası ciddi sakatlıklara yol açar. Hastalığın başlangıç yaşı 20-40 yaş arasındadır ve kadınlarda sık görülür. Hastaların yaklaşık yarısı 10 yıl içinde ilerleyici hale gelmektedir. MS, hastaların sosyal ve iş hayatlarını ciddi seviyede olumsuz etkiler. Hastalığın tıbbi ve sosyal etkilerinin yanı sıra, önemli bir ekonomik boyutu da vardır. “Tanı ve tedavi masraflarının sosyal güvenlik sistemine getirdiği yüke ek olarak hastaların iş verimi de oldukça düştüğü için hem hastaların kişisel ekonomik hayatları hem de ülke ekonomisi zarar görmektedir (2,3).”

Bu çalışmanın amacı; bir probiyotik olan kefirin immün-sistem hücrelerine etki edip sitokinler yoluyla bir modülasyon/antiinflamatuvar etki sağlayarak MS tedavisine ek olarak olumlu katkı yapıp yapamayacağını araştırmaktır. MS hastalarının beslenme şekline zaman zaman gıda takviyesi olarak tedaviye ek olarak bazı besinler önerilmektedir. Ataklı giden bu hastaların probiyotik olan kefir kullanımına bağlı olarak serumda proenflamatuar sitokinlerde (IL-6/IL-17) azalma, antiinflamatuvar sitokinlerde (IL-10) artış saptanması durumunda hastalığın prognozunda önemli katkı sağlayabileceği söylenebilir ve yardımcı tedavi olarak önerilebilir.

Multipl skleroza yönelik probiyotik takviyesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır; ekseriyetle doku ve serum düzeyinde Th<sub>1</sub> ve Th<sub>17</sub> aktivite azalmış iken Th<sub>2</sub> aktivite artmıştır. Bu çalışmalarda 2-3 probiyotik tür ile çalışılmış ancak Kefir gibi güçlü ve zengin bir probiyotik karışım kullanılmamıştır. Ayrıca ülkemizde MS’e yönelik herhangi bir gıda takviyesi çalışması henüz yapılmamıştır.

Burada temel hedefimiz: literatüre bağlı kalarak, MS patolojisine bağlı olarak deėiŐen parametrelerden sadece bir kaçına odaklanmak; kefir kr sonunda parametrelerde bir değişim olup olmayacağını göstermektir ki değişim söz konusu ise kefirin MS'te muhtemel antienflamatuar ve immunmodulator etkisi vurgulanmıŐ olacaktır.

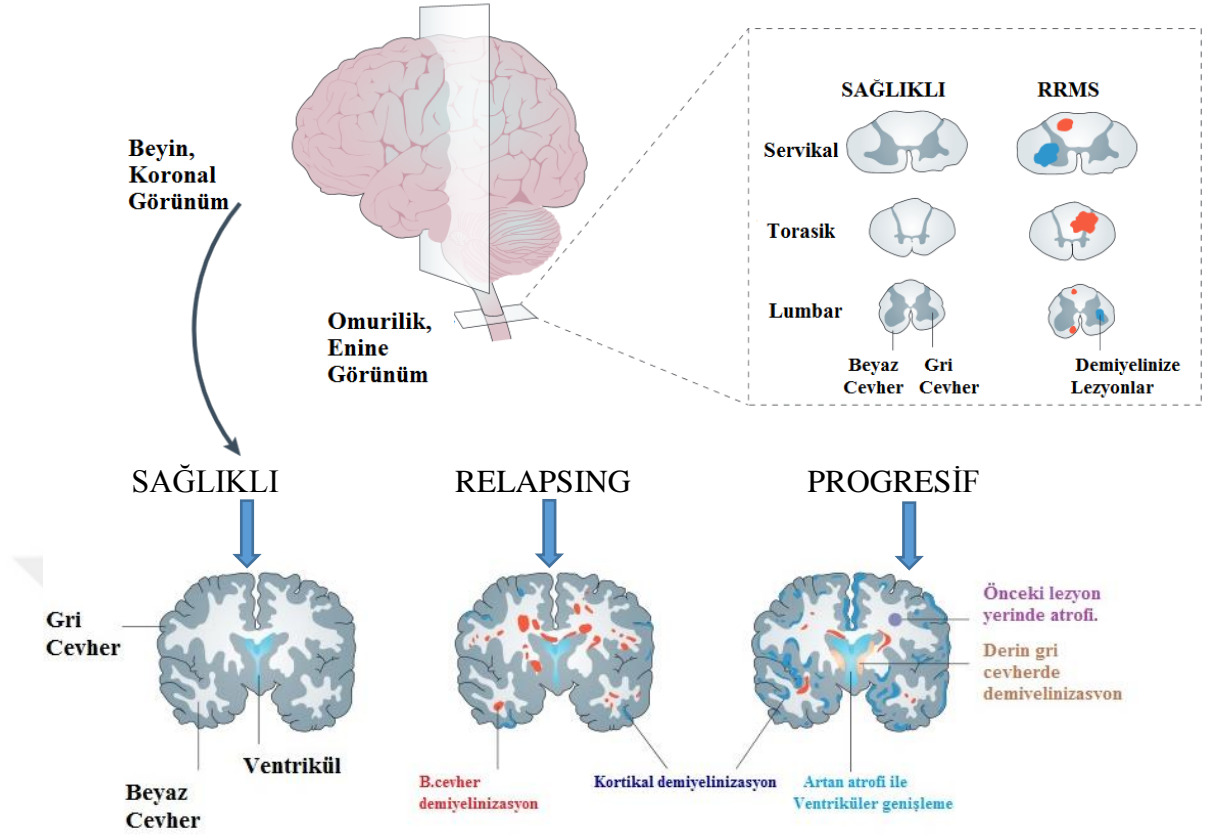


## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1. Multipl Skleroz

“MS, immün sistem aracılı enflamasyona, demiyelinizasyona ve müteakip akson hasarına bağlı olarak motor ve duyu fonksiyon kaybı ile karakterize kronik nöroimmünolojik bir SSS hastalığıdır. MS 20-40 yaş arasında başlar ve nörolojik engelliliğin en yaygın sebebidir (4,5).”

Klinik manifestolar oldukça değişkendir; motor, görsel ve duyu bozukluk, mesane/bağırsak boşaltım problemleri, denge ve yürüme güçlüğü, yorgunluk/bitkinlik, vb..(6,7). Hastalığın seyri tipik olarak ilk atak görüldükten sonra yavaş ilerleyen remisyon/relaps döngüsüdür. Daha nadir görülen ataksız giden fakat ilerleyici seyreden formu da vardır (8). Demiyelinizasyon ve aksonal/nöronal dejenerasyon esasen immün sistem hücrelerinin SSS’e infiltrasyonu ile başlar (9) ve genel kabule göre de miyelin self antijenlere karşı anormal bir immün yanıtın giderek artmasıyla devam eder. MS; genetik yatkınlık, sonradan kazanılan defektler ve çevresel etmenlerin kombine olup bağışıklık sisteminin yeteneğini geçersiz kılması ve anormal immün yanıtı sebep olmasına bağlıdır (10). Multipl sklerozun patogenezi tam olarak anlaşılammıştır; T hücreleri, beyin lezyonlarında hastalığın erken döneminde görülür ve T hücre infiltratları, tipik olarak beyaz ve gri maddelerde gelişir ve sinir liflerini çevreleyen miyelin kılıfını ve miyelin üreten oligodendrositleri hedefler (6). Enflamasyonu takiben değişken bir zaman süresinden sonra, bu evrede hastalığın daha progresif ve nörodejeneratif olan fazı izlenir (Şekil-4.1)(2,8).

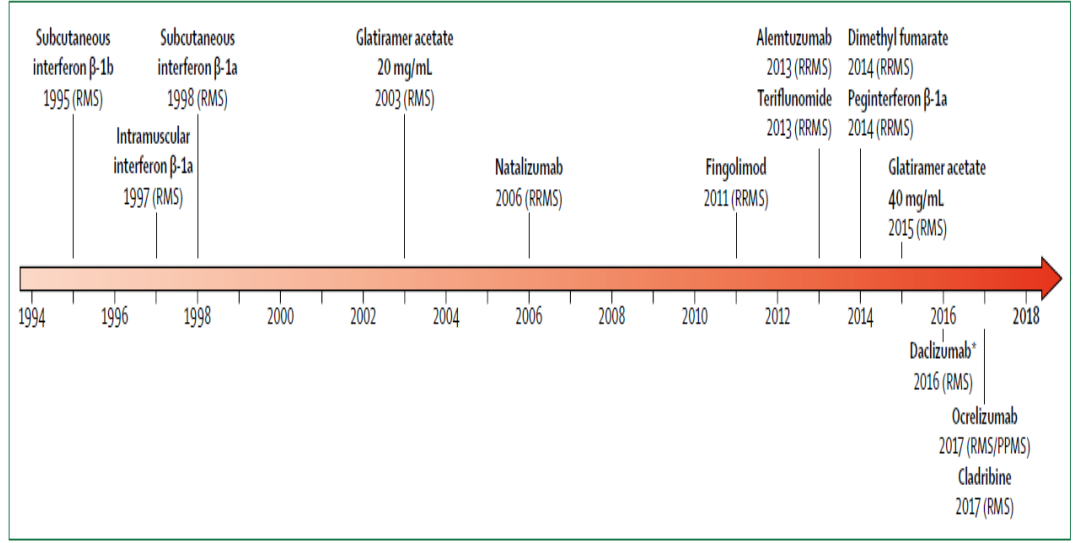


Şekil 4.1 Multipl Skleroz Patolojisi.

Multipl skleroz patolojisi, beynin ve omuriliğin plak ve lezyonlar olarak adlandırılan ve miyelin kılıflarının ve oligodendrositlerin kaybına işaret eden beyaz ve gri cevherdeki konfluent demiyelinize alanlar ile karakterizedir. (Nature Reviews Immunology Volume 15, 2015 sayfa 547 Box-2 den değiştirilerek alınmıştır)

Atakların sıklığını azaltmak, özürülük birikimini önlemek, beyin MR görüntülemesinde aktif lezyon ve T2 lezyonlarının azaltılmasına yönelik yardımcı basamak tedaviler vardır (şekil-4.2) (11,12). ABD'de multipl sklerozun yıllık ekonomik maliyeti yaklaşık \$ 10 milyardır (13). Kesin bir tedavisi olmayan MS için immunsupresyon gibi farklı tedavi seçeneklerine ihtiyaç olmaktadır. Ancak bu da hastaların enfeksiyon, kanser, vb durumlara karşı zayıf kalması riskini doğurmaktadır.





Şekil 4.2 Multipl Skleroz İçin Hastalık Modifiye Edici Tedaviler (Lancet 391, 2018 sayfa 1630 şekil-3 den alınmıştır)

#### 4.1.1. MS İmmünolojisi

MS, miyelin spesifik T hücrelerinin başlattığı bir enflamasyon ve demiyelinizasyon sürecidir (14). Aslında hastalığın başlangıcından beri T ve B lenfosit iş birliği içinde çalışıyor olabilir. Periferde ve SSS'de T hücreleri aktive olmaya başlar ayrıca endotel hücre reseptörlerine bağlanarak kan-beyin bariyerini aşarlar. SSS'de APC hücreler tarafından reaktif olup mediator, sitokin, vb. üretmeye ve diğer immün sistem hücrelerini aktive ve organize etmeye başlarlar. T-helper hücreleri antijen spesifik immün cevapta merkezi bir role sahiptir ve iki alt tipi mevcuttur. Th<sub>1</sub> hücreleri hücrel immün yanıtta esastır, tümör ve intrasellüler patojenlere karşı (virüsler) geliştirilen yanıtta rol alır. IL-1, IL-2, IL-12, IL-23, interferon gama(IFN- $\gamma$ ) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) gibi proenflamatuar sitokinleri sekrete eder. MS gibi otoimmün hastalıklarda Th<sub>1</sub> hücreleri, vücudun kendi proteinlerine karşı immün reaksiyon gösterir. Th<sub>2</sub> hücreleri ise antikor aracılıklı immün yanıtta rol alır; Transforming growth faktör (TGF), IL-4, IL-10, IL-13 gibi antiinflamatuvar sitokinleri üretir. Ekstrasellüler patojenlere karşı otoimmün sürece kostimülatör moleküller, inflamatuvar sitokinler, B hücreleri ve mononükleer hücreler katılır, periferdeki bu inflamatuvar elemanlar kan beyin bariyerini aşarak merkezi sinir sistemine taşınır. Astrosit ve mikrogliaların da katıldığı kompleks bir immün yanıt ortaya çıkar. Sonuç, anormal enflamasyon ve demiyelinizasyon, nörodejenerasyon meydana

gelmesidir(15). Başka bir önemli oyuncu ise regulator T hücrelidir(T-reg) (16). T-reg hücreler immün sistemde self-toleransın bakım ve kontrolünden ve otoimmunitiyi önlemeden sorumludurlar fakat MS'te görevlerini pek de yerine getiremezler. Salgıladıkları sitokin ve antikolar ile MS ile ilişkili bir diğer hücre grubu da B lenfositlerdir (17) ve *B-cell-depletion* terapisinde sağlanan kısmi başarı bunun bir kanıtıdır (18). Makrofaj ve dendritik hücelere dönüşen monositler ise antijen-sunumu, sitokin salınımı vb faaliyetleri ile MS patolojisinde rol oynarlar (19).

#### **4.1.2. Multipl Skleroz Tipleri**

MS tiplerinin en sık görülen şekli RRMS'tir. Artık Progresif MS sınıflandırması altında hem Primer Progresif MS(PPMS) hem Sekonder Progresif MS(SPMS) yer almaktadır (20) (şekil-4.3).

Klinik İzole sendrom(KİS)

- ON, spinal tutulum
- Beyinsapı ve hemisferik

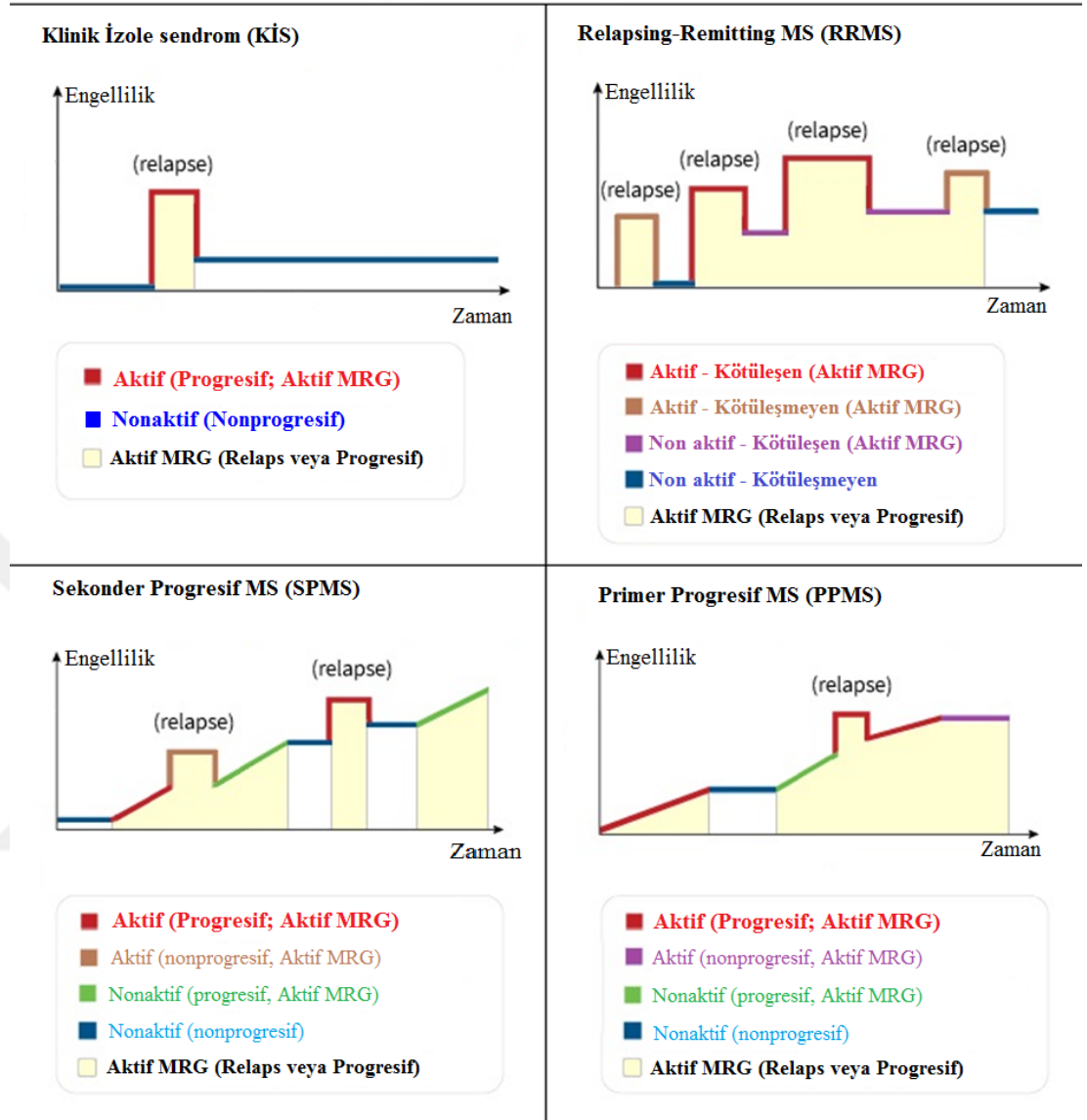
Relapsing-Remitting MS(RRMS)

- Aktif ve non aktif

Progresif MS(PMS)

- Aktif (progresif, nonprogresif)
- Nonaktif (progresif, nonprogresif)

### Multipl Skleroz Tipleri (2013 Sınıflandırması)



Şekil-4.3 Multipl Skleroz Tipleri ([https://my-ms.org/ms\\_types.htm](https://my-ms.org/ms_types.htm) şekil-3 den değiştirilerek alınmıştır.)

#### 4.1.3. Multipl Skleroz ve Belirtileri

MS hastalarında SSS hasarı ile ilişkili tüm belirti ve bulguların görülme ihtimali bulunmakla birlikte görülme sıklıkları değişkendir. Duyusal semptomlar; ağrı, ısı, dokunma, vibrasyon ve pozisyon duyusunda bozulma şeklinde olur. Motor semptomlar; kuvvet kaybı, spastik paraparezi, yürüme güçlüğüdür. Görsel semptomlar; optik nörit ya da retrobulber nörit, diplopi şeklindedir. Diğer klinik

belirtiler ise serebellar tremor, ataksi, nistagmus, dizartri, kognitif bozukluklar, yorgunluk, sık idrara çkma, yetişememe, idrar yapmaya başlamada güçlük şeklinde sfinkter kusurudur.

#### 4.1.4. Multipl Sklerozda Tanı

MS hastalığının kesin tanısı konulurken klinik esas alınır. Atak düşündüren klinik bulgu varlığında ilk olarak MRG incelemesi yapılmaktadır. Ayrıca muhtemel diğer tanıları dışlamak için ek tetkikler yapılmaktadır. Beyin-omurilik sıvısında (BOS) oligoklonal bant (OKB) ve IgG indeksinin belirlenmesi, uyarılmış potansiyel testleri oldukça önemlidir.

SSS lezyonlarının ve sebep oldukları klinik tablonun zamanda ve mekanda yayılımının gösterilmesi ve yanlış tanı koymaya yol açabilecek benzer diğer hastalıkların elimine edilmesi çok önemlidir (21)(Tablo-4.1). Farklı dönemlerde bir standart oluşturmak için uluslararası kongreler düzenlenmiştir;

- Schumacher Paneli (1965)
- Poser tanı Kriterleri (1983)
- McDonald Kriterleri (2001, 2005, 2010, 2017)

Tablo-4.1 Revize 2017 McDonald Kriterleri (Lancet Neurol 2018; 17: sayfa 167 Tablo-1 den alınmıştır)

<b>Klinik Atak Sayısı</b>	<b>Klinik görünüm</b>	<b>Multipl Skleroz Tanısı İçin Gerekli Ek Kanıt</b>
≥ 2	≥ 2 lezyona ait objektif klinik bulgu	Yok <sup>a</sup>
≥ 2	1 (ayrı bir anatomik lokasyonda bir lezyonu içeren daha önceki bir saldırının açık ve net kanıtı <sup>b</sup> )	Yok <sup>a</sup>

$\geq 2$	1 lezyona ait objektif klinik bulgu	Farklı bir SSS bölgesini tutan ek bir klinik atak gösterdiği <b>mekanda yayılım</b> veya MRG.
1	$\geq 2$	“Ek bir klinik atağın gösterdiği <b>zamanda yayılım</b> veya MRG” <b><u>VEYA</u></b> “BOS-spesifik oligoklonal bantların gösterilmesi”.
1	1	[Farklı bir SSS bölgesini tutan ek bir klinik atağın gösterdiği <b>mekanda yayılım</b> veya MRG] <b><u>VE</u></b> [“Ek bir klinik atağın gösterdiği <b>zamanda yayılım</b> veya MRG” <b><u>VEYA</u></b> “BOS-spesifik oligoklonal bantların gösterilmesi”].

a. Mekan ve zamanda yayılımı göstermek için ilave testlere gerek yoktur. Ancak, MRG’e engel durum söz konusu olmadıkça, multipl skleroz tanısı düşünülmekte olan tüm hastalarda beyin MRG’si çekilmelidir. Ayrıca, multipl sklerozu destekleyen klinik ve MRG kanıtlarının yetersiz olduğu, tipik klinik olarak izole edilmiş bir sendromdan başka bir sunumu olan veya atipik özellikleri olan hastalarda spinal kord MRG veya BOS incelemesi düşünülmelidir. Görüntüleme veya diğer testler (örn., BOS) gerçekleştirilirse ve negatifse, multipl skleroz tanısı koymadan önce dikkatli olunmalıdır ve alternatif tanıları düşünülmelidir.

b. İki atak için objektif klinik bulgulara dayanan klinik teşhis en güvenlidir. Belli bir nörolojik bulgunun yokluğunda, geçmişte yapılan bir atak için makul tarihsel kanıtlar, önceki enflamatuvar demiyelinizan atağın semptomları ve evrimsel özellikleri ile tarihsel olayları içerebilir; Bununla birlikte, en az bir atak, objektif bulgular tarafından desteklenmelidir. Kalan objektif kanıt yokluğunda dikkatli olunması gerekmektedir.

## 4.2. Sitokinler

Doğal ve spesifik immün yanıt oluşumunda rol oynayan, immün sistem hücrelerinin karşılıklı ilişkilerini düzenleyen çözünür peptid ve glikoprotein yapısında maddelerdir. Bunlar, lenfositler tarafından salgılandıkları zaman lenfokinler, monosit ve makrofajlar tarafından salgılandığında ise monokinler, lökositler tarafından salgılandıkları zaman ise interlökin olarak adlandırılmaktadır (22). Hücreler arası sinyal proteini olan sitokinler, immün ve inflamatuvar yanıt oluşumu, hematopoez ve yara iyileşmesi gibi farklı birçok biyolojik olayın düzenlenmesinde rol alırlar. Değişik uyarılara cevap olarak salınan sitokinlerin, hedef hücrelerin büyüme, farklılaşma, aktivasyon ve doku onarımında önemli biyolojik rolleri vardır. İmmün ve inflamatuvar olaylara katılan hücrelerin etkinliklerinin artırılması, uyarılması sitokinler aracılığı ile olur. Sitokinler, hücrelerin çevresel koşullarına göre farklı etkiler gösterebilmektedir. Sitokinler hücreler arası sinyal mekanizmasında görev alan hücrelerin davranışını değiştirebilen proteinlerdir (22,23). Multipl skleroz patofizyolojisinde yer alan antiinflamatuvar(IL-10, IFN- $\beta$ , IL-4) ve proinflamatuvar sitokinler Tablo-4.2 de özetlenmiştir (24).

Tablo-4.2 Multipl Skleroz Patogenezine Katkıda Bulunan Sitokinler (Multiple Sclerosis Journal 2018, Vol. 24(4) sayfa 434 Tablo-1 den alınıp yeniden düzenlenmiştir).

Sitokin	Ana Üreticiler	MS şiddeti	Potansiyel Tedaviler
GM-CSF	T hücre	Artar	Anti-GM-CSF'nin güvenliği (MOR103) faz 1b'de test edildi.
IFN- $\gamma$	Th <sub>1</sub>	Artar	IFN- $\gamma$ ile tedavi, hastalığı şiddetlendirir.
IL-2	Th <sub>1</sub>	Artar	IL-2R inhibitörü daclizumab RRMS tedavisi için onaylanmıştır.
IL-6	Makrofajlar/Mikroglia	Artar	Anti-IL-6 inhibitörü tocilizumab nüks

			riskini artırıyor gibi görünmektedir.
IL-9	Th <sub>9</sub>	Bildirilmedi	Bildirilmedi
IL-17	Th <sub>17</sub>	Artar	MRG'de anti-IL-17A inhibitörü sekukinumab lezyon aktivitesini azaltmıştır.
IL-12	DC , Makrofajlar	Lezyonlarda ve BOS'ta yükselme	Anti-IL-12/ IL-23p40 inhibitörü ustekinumab, RRMS klinik faz II çalışmasında etkinlik göstermemiştir.
IL-21	Th <sub>2</sub> , Th <sub>17</sub> , NKT	Değişmemiş veya Artmış	Bildirilmedi
IL-23	DC , Makrofajlar		Anti-IL-12 / IL-23p40 inhibitörü ustekinumab, RRMS klinik faz II çalışmasında etkinlik göstermemiştir.
IL-22	Th <sub>17</sub> , Th <sub>22</sub>	Artar	Bildirilmedi
TNF- $\alpha$	Makrofajlar	Aktif lezyonlarda, serumda, BOS'ta artış	İnhibitörlerle tedavi, hastalığı şiddetlendirir.
IL-10	Th <sub>2</sub> , DC	Azalıır	Bildirilmedi
IFN- $\beta$	DC	Net Bilinmiyor	RRMS için birinci basamak tedavi.
IL-4	Th <sub>2</sub>	Azalıır	Bildirilmedi

#### 4.2.1 IL-6

“IL-6, IL-6 sitokin ailesinin bir üyesidir. IL-6, immün yanıtların, akut faz yanıtların, hematopoezin ve enflamasyonun düzenlenmesinde rol oynayan multi-fonksiyonel bir pleiotropik sitokindir. Sistemik inflamasyon sırasında farklı uyarılara (IL-1, IL-17 ve TNF-a) yanıt olarak endotel hücreleri, fibroblastlar, monositler ve makrofajlar tarafından üretilir. IL-6, B lenfositlerin antikor yapabilmesi için gerekli temel faktörlerden biridir (25,26).”

“IL-6; multi-fonksiyonel, adaptif immünette önemli etkileri olan (özellikle T ve B hücrelerinin aktivasyonundan sonra), proinflamatuvar rolde, pleiotropik bir sitokindir. Periferal B lenfositlerin, gelişimin son aşamasında Plazma hücrelerine dönüşümünü indükler. IL-6, yardımcı T hücrelerinin Th<sub>17</sub> fenotipi geliştirmesinde olmazsa olmaz bir oyuncudur. Normal hücreler, genellikle IL-6'ı fazla salgılamazlar (27).”

#### 4.2.2 IL-10

“Antiinflamatuvar ve immünsüpresif etkilidir. Bu ağırlıklı olarak inhibitör bir sitokindir. IFN- $\gamma$ 'nın Th<sub>1</sub> hücreleri tarafından üretimini inhibe eder, böylece bağışık yanıtı Th<sub>2</sub> tipe kaydırır. Birçok hayvan ve insan çalışması IL-10 un inflamatuvar cevabın düzenlenmesinde önemli rolü olduğunu göstermektedir (28).”

IL-10, esas olarak monositler, T hücreleri (başlıca tip-1 Treg hücreleri), B hücreleri (başlıca Breg hücreleri), NK hücrelerinin küçük bir kısmı, makrofajlar ve DC'ler tarafından üretilen bir anti-inflamatuvar interlökindir. “IL-10, birçok proinflamatuvar sitokin, kemokin ve kemokin reseptörünün ekspresyonunu inhibe eder (29).” IL-10; CD28, CD2 ve indüklenebilir T-hücre kostimülatör sinyalizasyonunu baskılayarak T-hücre aktivasyonunu doğrudan etkiler. T hücreleri üzerindeki engelleyici etkilerinin aksine, IL-10 insan B hücrelerinin hayatta kalmasını, proliferasyonunu ve farklılaşmasını teşvik eder ve IgG<sub>4</sub> üretimini artırır (30-32).



### 4.2.3 IL-17a

IL-17A, IL-17 ailesinin en çok çalışılan üyesidir(33). Son zamanlarda, IL-17A ve IL-17A üreten hücreler, çeşitli otoimmün ve enflamatuvar hastalık tiplerinin tedavisi için ilaç keşfine yönelik önemli hedefler haline gelmiştir. Anti-IL-17A, psoriasisin tedavisi için FDA onaylıdır ve bu yolak; multipl skleroz, astım, romatoid artrit, transplant reddi ve inflamatuvar barsak hastalığında da çalışılmıştır(34). İnsan IL-17 içeren hücrelerdeki süpernatant ve füzyon proteinleri IL-6 ve IL-8'in üretimine neden olur ve insan fibroblastlarında ICAM-1'in yüzey ekspresyonunu artırır (3,23).

### 4.3 Probiyotik

Probiyotik terimi, Greekçe olup, "hayat için" anlamına gelmektedir. Probiyotikler, yeteri kadar tüketildiği takdirde kişileri hastalıklara karşı koruyan/hastalıklarını düzelten, patolojik sınıfta olmayan, endojen mikrobiyotaya olumlu katkıları olan ve onu dengeleyen canlı mikroorganizma kültürü şeklinde tanımlanabilir (35,36).

Probiyotiklerin *Borchers* Kriterleri(35,37):

- Mikroorganizmalar büyük oranda tanımlı olmalı (cins,tür,suş)
- Tüketimi insan sağlığı için güvenli olmalı
- Asit ve safraya dayanıklı olmalı; Sindirimde özelliğini yitirmemeli
- Antibiyotiklere dayanıklı olmalı
- **Mukozaya yapışmalı ve kolonize olmalı**
- Gastro-intestinal immun sistemi stimüle etmeli,
- Gastro-intestinal enfeksiyonlara karşı doğal direnci arttırmalı
- Gösterilmiş sağlık etkileri olmalı (en az bir adet Faz-2)
- Üretim ve depolama koşullarında bozulmadan kalabilmeli.

Barsaktaki epitel ve mukoza yüzeyine probiyotik mikroorganizmaların tutunmasının; kısa/orta ömürlü kolonizasyonda, patojenlere yönelik mücadelede, immün sistemin aktive edilmesinde ve deforme olan mukozanın iyileşmesinde, vb önemli rolü olduğu bilinmektedir. Barsak epiteline tutunamayan probiyotik mikroorganizmalar dışarıya feçes ile beraber atılır ve fonksiyonel faydalarını gösterme imkanı bulamazlar (38).

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar çoğunlukla laktobasil ve bifidobakteri grubundandır.

#### 4.4 Kefir

Kefir, probiyotik sınıfında fonksiyonel bir gıda olup birçok faydalı maya ve bakteri içerir. Ele geçen son tarihsel verilere bakılırsa Kafkasya kökenli olan ve 4000 yıldan beri yöre halkı tarafından geleneksel olarak tüketilen Kefir; inek, koyun, keçi ve kısrak sütüne, kefir granülleri katılarak fermentasyon prosesi ile üretilen bir gıda takviyesidir. Kefir, temel fizyolojik reaksiyonlara, metabolizmaya ve immün sistem olaylarına yardımcı olan bakterileri, mayaların yanı sıra vitamin, mineral ve esansiyel aminoasitler içermektedir (39,40). Düzenli kefir tüketiminin, antioksidan, bağışıklık sistemi düzenleyici, antialerjik gösteren çalışmalar vardır (41-43).

Tablo-4.3 Kefirin Kimyasal Bileşimi (100 gram) (CODEX STAN 243-2003).

Enerji	65 kkal	Vitaminler (mg)	
Yağ (%)	3.5	B1	0.04
Protein (%)	3.3	B2	0.17
Laktoz (%)	4.0	B6	0.05
Su (%)	87.5	B12	0.5
Süt Asidi (g)	0.8	A	0.06
Laktik Asit (g)	1.0	Karoten	0.02

Kolesterol (mg)	13.0	Niasin	0.09
<b>Esansiyel amino asitler (g)</b>		C	1.0
Lizin	0.27	D	0.08
Löysin	0.34	E	0.11
İzolöysin	0.21	<b>Mineraller</b>	
Metionin+sistin	0.12	Ca (g)	0.12
Fenilalanin+tirozin	0.35	P (g)	0.10
Valin	0.22	Mg (g)	12
Triptofan	0.05	Fe (mg)	0.05
Treonin	0.17	Molibden (µg)	5.5

**Kefir ve İmmünoloji;** Kefir, ihtiva ettiği biyoaktif peptidler sayesinde sistemik etkiler göstermektedir. Biyoaktif peptidlerin makrofajları aktive ederek doğal bağışık yanıtı indüklediği; NO ürettiği ayrıca fagositoz ve sitokin salınımını da arttırdığı; lümen içi IgG düzeylerini ve ek olarak barsak dokusundaki IgA+ B hücrelerinin seviyelerini yükselttiği bilinmektedir (44-46).

Sağlıklı gönüllüler üzerinde yapılan bir çalışmada 6 hafta boyunca 200 ml/gün kefir verilmiş; 3. ve 6. Hafta sonunda ve kefir kesildikten 3 hafta sonra(9. hafta) serum değerlerine bakılmıştır; IL-8 düzeyleri, 0. hafta ile karşılaştırıldığında 3. ve 6. haftalarda azalırken, kefirsiz 3. haftada düşük düzeyini korumuş; IL-5 ve IL-10 seviyeleri ise aynı dönem ölçümlerinde artmıştır (47).

Kefirin anti-enflamatuar etkilerine örnek olacak 21 günlük kefir kürü yapılan bir hayvan çalışmasında ise; feçeste artmış IgA, serumda artmış IL-10, Peyser plakları ve mezenterik lenf nodlarında azalmış proinflamatuvar/artmış IL-10 gen ekspresyonu gözlenmiş. İleum'da IL-10, CXCL-1 genleri up-regule olmuş iken Kolon'da IFN- $\gamma$ , GM-CSF ve IL-1 $\beta$  down-regule olmuştur. Kolon ve İleum'da deneysel olarak yükseltilmiş IL-6 ise kefir grubunda azalmıştır (48).

Bir Diabetes mellitus hayvan çalışmasında 30 gün kefir kürü uygulaması sonrası IL-6 ve IL-1 de azalma gözlenirken artmış IL-10 ölçülmüş; açlık kan şekeri normal sınırlara inmiştir (49).

#### **4.5 MS'e yönelik probiyotik takviyesi terapötik çalışmalar**

Deneysel MS oluşturulmuş hayvanlara 2 hafta *L. Paracasei*, *L. Plantarum* ve *L. Plantarum* DSM 15313 üçlü kürü uygulanmış; dalak ve serum örneklerinde artmış IL-27 / IL-10 ve azalmış Th<sub>1</sub> ve Th<sub>17</sub> etkinliği ölçülmüş, histolojik iyileşme gözlemlenmiş. Hücre kültür ve devamı deneylere göre sürecin IL-10 üreten Treg hücreler üzerinden yürüdüğü kanaatine varılmış (50).

Deneysel nöroinflamasyon modelinde hayvanlara 22 günlük *Bifidobacterium animalis* ve *Lactobacillus Plantarum* kürünü müteakip *m. spinalis*, lenf nodları ve dalak çıkartılmış; *m. spinalis* de histolojik iyileşme görülmüş, *m. spinalis* ve dalak supernatantında ELISA ile artmış Th<sub>2</sub> antienflamatuar sitokin ölçülmüş, dalak ve *m. spinalis* de flow sitometriye göre Th<sub>2</sub> hücreleri artarken Th<sub>1</sub> ve Th<sub>17</sub> azalmış/ dalak ve lenf nodlarında artmış CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg popülasyonu görülmüş (51).

#### **4.6 MS ve gut mikrobiyom ilişkisine dikkat çeken çalışmalar**

Plasebo kontrollü bir çalışmada probiyotik içeren kapsül (VSL3,Sigma) ile 2 aylık kür uygulanmış antienflamatuar sitokinler serumda artarken proenflamatuar sitokinler azalmış, kürün kesilmesinden 2 ay sonra bu değerler eskiye dönmüş ayrıca hastaların kısmen azalan kolit, irritabl bağırsak sendromu şikayetleri tekrar artmıştır. 60 hasta/43 S.K. olan benzer bir çalışmada IL-10 spesifik Treg'lerde artış gözlenmiş; kürün kesilmesinden bir süre sonra değerler eskiye dönerken gastro-intestinal şikayetlerde tekrar artış gözlenmiş (52).

Bir çalışmada deneysel MS hayvan modelinde 3 haftalık *Lactobacilli* karışımı kürünü müteakip intestinal mukozoda Th<sub>1</sub> ve Th<sub>17</sub> aktivite azalmış, serum IL-10 artmış; miyelin kılıfta kısmi histolojik iyileşme gözükmiştir (53).

Plasebo kontrollü 40 hastalık bir MS çalışmasında 12 haftalık *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *Bifidobacterium bifidum*, and *L.fermentum* kürünü müteakip kan mononükleer hücre gen ekspresyonunda IL-8 and TNF-a down-regulasyonu görülmüştür (54).

Yenidoğan bağırsakları sterildir ancak hızla maternal ve çevresel kaynaklı bir kolonizasyon olur. Yaşamın erken dönemlerinde intestinal ekosistemde oluşan bir bozukluğun etkileri de bir ömür süresince devam eder. Erken çocukluk döneminde endojen mikrobiyota artık şekillenmiştir; iyi ya da kötü kondisyonda olsun yetişkinlerin mikrobiyotası çok az esneklik gösterir (55). Bu düşük esnekliği kırıp eksternal kaynaklı bir kolonizasyon sağlamak **Kefir** gibi güçlü ve zengin bir probiyotik karışım ile mümkün olur.

Probiyotikler, bağırsaklarda doğal immüniteyi ve antiinflamatuvar sitokin yapımını arttırarak ve proinflamatuvar sitokin yapımını inhibe ederek immün regulator rol oynarlar ancak bunun için önce mukozaya tutunmaları ve kolonizasyon sağlamaları şarttır (56-58).

## 5. MATERYAL VE METOT

Çalışmamıza İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji kliniğinde takipli McDonald 2010/2017 kriterlerine göre RRMS tanısı alan, Genişletilmiş Engellilik Durum Ölçeği (EDSS) (59,60) 5.5 ve altında olan hastalar alındı.

### **Gönüllülerin araştırmaya dahil edilme kriterleri:**

- 1- McDonald kriterine göre Relapsing-Remitting MS tanısı alan,
- 2- 18-50 yaş arası,
- 3- (EDSS) 5.5'in altında olan,
- 4- Ayakta Tedavi Gören.

### **Gönüllülerin dışlama kriterleri:**

- 1- Son 1 ay içinde atak geçirmiş olması,
- 2- Son 1 ay içinde steroid tedavisi almış,
- 3- Yakın dönemde travma, stres, ameliyat öyküsü olan hastalar.

### **5.1 Bilgilendirme ve Onam**

“İstanbul Medipol Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu” na başvurulmuş ve Etik kurul onayı alınmıştır. Etik kurul onayı için çalışma protokolü, çalışmaya katılacak olan araştırmacılara ait özgeçmiş bilgileri, hasta takiplerinde kullanılmak üzere hazırlanan standart form örneği ve gönüllü bilgilendirme ve onam formunu da içeren geniş kapsamlı bir dosya hazırlanarak etik kurul onayına sunuldu. Çalışmaya alınan hastalar, çalışma protokolüne göre önceden hazırlanan “Gönüllü Bilgilendirme Formu” ile çalışmanın amacı, süresi, araştırma kapsamında yapılacak araştırma yöntemleri hakkında yazılı ve ayrıca sözlü olarak bilgilendirildi. “Gönüllü Onam Formu” imzalatılarak çalışmaya katılmayı kabul eden tüm hastaların yazılı olarak onamı alındı.

## 5.2 Değerlendirme

Hastalar gıda takviyesi olarak kefir verilen ve verilmeyen iki grup olarak ayrıldı. Her iki grupta serumda IL-6 IL-10 ve IL-17 seviyeleri ölçüldü.

Hasta ve Kontrol grupta 0. ve 60. gün serum örnekleri alınıp ölçüm yapıldı. Ölçümler, BioTek Synergy/HTX cihazında Thermo Fisher kitleri ile ELISA yöntemine göre yapıldı;

- **Human IL-6 INSTANT ELISA Kit (BMS213INST)**
- **Human IL-10 INSTANT ELISA Kit (BMS215INST)**
- **Human IL-17A Platinum ELISA Kit (BMS2017)**

## 5.3 Power analiz

Bu çalışmada; çalışma sonuçlarının yorumlama kısmında en önemli değişken serum Interleukin konsantrasyonudur. Bu nedenle örneklem sayısı hesaplamada baz olarak bu değer alınmıştır. Buna göre; serum Interleukin konsantrasyonu sayısal bir değişken olduğu için gönüllü sayısının grup başına minimum 20 olması, grupların normal dağılım göstermesi için ve bu gruplara parametrik testler uygulanması hususu uygun görülmüştür.

- **Hasta Grup:** Kefir ile 2 ay beslenen n=21
- **Hasta Kontrol Grup:** Beslenme Takviyesi Almayan n=22

Tablo 5.1 EDSS Kriterleri

<b>EDSS SKOR</b>	<b>DURUM</b>
<b>0</b>	Normal. Bütün fonksiyonel Sistemlerde (FS) Seviye 0)
<b>1</b>	Özürlülük yok, bir FS' de minimal belirtiler (Seviye 1)
<b>1,5</b>	Özürlülük durumu olmaksızın birden fazla FS' de minimal bulgular (birden fazla FS Seviye 1)
<b>2</b>	Bir FS' de minimal özürlülük (Bir FS Seviye 2, diğerleri 0 veya 1)

<b>2,5</b>	İki FS' de minimal özürllük (İki FS Seviye 2 diğerleri 0 veya 1)
<b>3</b>	Bir FS de orta derecede özürllük (bir FS Seviye 3 diğerleri 0 veya 1) ya da üç veya dört FS' de hafif özürllük (üç/dört FS Seviye 2, diğerleri 0 veya 1) hasta tamamen ambulatuvar
<b>3,5</b>	Tam ambulatuvar hasta, bir FS de orta derecede özürllük (bir FS Seviye 3 ) ve bir veya iki FS Seviye 3 veya beş Seviye. FS Seviye 2 (diğerleri 0 veya 1).
<b>4</b>	Tam ambulatuvar hasta. Bir FS' de Seviye 4 (diğerleri 0 veya 1)'den oluşan göreceli şiddetli özürllük. Hasta günün önemli bir bölümünde yardıma ihtiyaç duymaz. Geri kalan bölümünde hafif bir desteğe gereksinim duyar. Veya önceki basamakların limitlerini aşan daha küçük seviyelerin kombinasyonları. 500 metreden daha uzun mesafeyi yardım almadan ve dinlenmeden yürüeyebilir.
<b>4,5</b>	Günün önemli bir bölümünde yardımsız olarak tam ambulatuvar, geri kısmında minimal düzeyde yardıma gereksinim duyar. Nispeten şiddetli özürllük söz konusudur. Genellikle bir FS Seviye 4 (diğerleri 0 veya 1) veya önceki basamakların limitlerini aşan daha küçük derecelerin kombinasyonları. Yardım almadan ve dinlenmeden 300 metre yürüeyebilir.
<b>5</b>	Yardımsız 200 metre yürüeyebilir; özürllük tam günlük aktivitesini bozacak kadar şiddetli (özel önlem olmaksızın tam gün çalışabilme gibi). Genel olarak FS eşdeğerleri tek başına bir FS' de Seviye 5, diğerleri 0 veya 1) ya da genellikle 4. basamağın özelliklerini aşan daha küçük seviyelerin kombinasyonları.
<b>5,5</b>	Yardımsız veya dinlenmeksizin 100 metre yürüeyebilir. Özürllük tüm günlük aktivitelere engel olabilecek kadar şiddetli. Genel olarak FS eşdeğerleri bir FS' de tek başına bir Seviye 5, diğerleri 0 veya 1 ya da daha önceki basamağın limitlerini aşan daha küçük derecelerin kombinasyonları.
<b>6</b>	Yaklaşık 100 metre dinlenerek veya dinlenmeden yürüeyebilmek için aralıklı veya tek taraflı sürekli yardım (koltuk değneği, baston vb.) gerekir. Genel FS eşdeğerleri birden çok FS' de 3 veya daha fazla seviye kombinasyonu).
<b>6,5</b>	Dinlenmeden 200 metre yürüeyebilmek için sabit iki taraflı destek (koltuk değneği, baston vb.) gerekir. Genel FS eşdeğerleri ikiden çok FS' de 3 veya daha fazla seviyede bozukluk kombinasyonları).
<b>7</b>	Yardımla bile 5 metrenin üzerinde yürüeyemez, esasen tekerlekli sandalyeye muhtaç; Standart tekerlekli sandalyeyi süreyebilir ve tek başına yer değiştirebilir; günde 12 saatini tekerlekli sandalyede geçirir (genel FS eşdeğerleri birden fazla FS' de Seviye 4+ kombinasyonlarıdır; (çok nadiren, tek başına piramidal Seviye 5).



7,5	Bir kaç adımdan fazlasını atamaz, tekerlekli sandalyeye bağımlı; yer değiştirmek için yardıma ihtiyacı olabilir; sandalyeyi sürebilir, fakat standart tekerlekli sandalyede tüm günü geçiremez, motorlu tekerlekli sandalyeye ihtiyaç duyabilir (genel FS eşdeğerleri birden fazla FS' de Seviye 4).
8	Esas olarak yatak veya sandalyeye bağımlı ya da tekerlekli sandalye ile hareket edebilir, fakat günün çoğunu yatak dışında geçirebilir; birçok işini kendisi görebilir; genellikle kollarını etkin kullanılabilir (genel FS eşdeğerleri birçok sistemde genellikle 4+ seviyelerin kombinasyonları).
8,5	Günün büyük kısmında yatağa bağımlıdır; kolların bir miktar etkili kullanılabilir. Bazı kendine bakma fonksiyonlarını devam ettirebilir. Genel FS eşdeğerleri birçok sistemde genellikle Seviye 4+ kombinasyonları.
9	Ümitsizce yatağa bağımlı; iletişim kurabilir ve yemek yiyebilir. Genel FS eşdeğerlerinin çoğu Seviye 4+ kombinasyonları).
9,5	Tamamen çaresiz yatalak; etkin iletişim kurulamaz ya da yiyemez, yutamaz. Genel FS eşdeğerleri hemen hepsi Seviye 4+ kombinasyonları).
10	MS' e bağlı ölüm.

### ELISA yöntem özeti (IL-6/10);



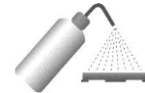
150 uL(IL-6 için)  
200 uL(IL-10 için)  
100uL(örnek)  
Ultra-saf su her  
kuyuya eklenir.



örnek kuyularına  
50 uL örnek  
eklenir.



3 saat RT  
inkübasyon



Otomatik/Elle  
6 kere yıkama



100 uL *TMB*  
*Substrate*  
*Solution* her  
kuyuya eklenir.



10 dk. RT  
karanlıkta  
İnkübasyon.



100 uL *stop*  
*solution* (asit) her  
kuyuya eklenir.



450 nm  
Okuma ve  
hesaplamalar.

### **Çalışma Protokolü (IL-6 / 10);**

1. İstenen sayıda numune ve ayrıca kör ve standartları(renkli) test etmek için gerekli olan kuyucuk striplerinin sayısını belirleyerek, her örnek, standart, kör ve kontrol örneği çift olarak denenmektedir. Ekstra kuyucuk stripleri tutucudan çıkarılıp ve -20 ° C'de sıkıca kapatılmış olan kurutucu ile folyo torbasında saklanır. A1 / A2 ila H1 / H2 pozisyonunda standart eğriyi içeren kuyucuk stripleri yerleştirilir.
2. Standart striplerin (A1, A2 ila H1, H2) etiketinde belirtilen miktarda tüm standart ve boş kuyulara ultrasaf su eklenir.
3. Tüm örnek kuyularına 100 uL ultrasaf su eklenir.
4. Her numunenin 50 ul'sini, belirtilen kuyucuklara iki kopya halinde ekleyin ve içeriği karıştırın.
5. Plate'i yapışkan filmle kaplayın ve 3 saat oda sıcaklığında (18°C ila 25°C) inkübe edin.
6. Yapışkan filmi ve boş kuyucukları çıkarılır. Kuyucukları kuyucuk başına yaklaşık 400 ul Yıkama Tamponu ile 6 kez yıkayın. Yıkama Tamponunun aspirasyondan önce yaklaşık 10-15 saniye boyunca kuyucuklara oturmasına izin verilir. Kuyucukların yüzeyini çizmemeye dikkat edilir. Son yıkamadan sonra, fazla Yıkama Tamponunu çıkarmak için emici ped veya kağıt havlu üzerinde striplerin ağız tarafını nazikçe tezgaha seri bir şekilde vurulur. Yıkamadan hemen sonra kuyucuk striplerini 15 dakikadan fazla olmamak üzere emici bir kağıda baş aşağı yerleştirilir. Kuyuların kurummasına asla izin verilmiyor.
7. Boş kuyuları da içeren tüm kuyulara 100 µl **TMB Substrat Solüsyonu** eklenir.
8. Plate'i 10-15 dakika boyunca oda sıcaklığında, karanlıkta (18 ° ila 25 ° C) inkübe edilir (renk gelişimi izlenmeli ve pozitif kuyucuklarda artık renk değişimi olmuyorsa substrat reaksiyonu durdurulmalıdır. Renk gelişimi için ideal zaman aralığının belirlenmesi, her bir analiz için ayrı ayrı yapılmalıdır; En yüksek standart koyu mavi renk olduğunda Stop Solüsyonun eklenmesi önerilir).
9. Kör kuyucuklar da dahil olmak üzere herbirine 100 µl Stop Solüsyonunu hızlı bir şekilde pipetleyerek ekleyin ve enzim reaksiyonunu durdurun. Stop Solüsyonunun,

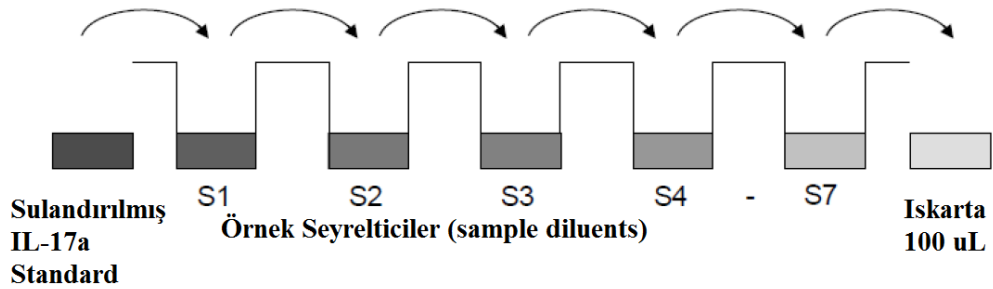
enzimi tamamen etkisiz hale getirmek için kuyucuklar boyunca hızlı ve muntazam bir şekilde yayılması önemlidir. Sonuçlar, Stop Solüsyonu eklendikten hemen sonra okunmalıdır (acil durumlarda karanlıkta 2 - 8 ° C'de saklanırsa bir saat içinde de okuma yapılabilir).

10. Spektro-fotometrede absorbanı birincil dalga uzunluğu olarak 450 nm ayarlayarak okuma yapılır.

#### **Standard(IL-17a) Seri Dilüsyonların Hazırlanması;**

- 1) Ultrasaf su ekleyerek insan IL-17A standardını sulandırılır.
- 2) Her standart için bir tane olmak üzere 7 mikrosantrifüj tübüne “S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7” yazılır.
- 3) Her tüpe 225 ul Diluent eklenir.
- 4) S1 olarak etiketlenen ilk tüpe sulandırılmış standarttan (konsantrasyon = 200 pg / ml) 225 ul eklenir ve karıştırılır.
- 5) Bu dilüentin 225 ul'sini S2 etiketli ikinci tüpe ekleyiniz ve bir sonraki aktarmadan önce iyice karıştırılır.
- 6) Seri dilüsyonları 5 kez daha tekrarlanır, böylece standart eğrinin noktalarını verecek olan konsantrasyonlardaki Std.ları elde etmiş olunur (Sample Diluent Kör(*Blank*) olarak işlev görecek).

#### **100 uL kuyudan kuyuya transfer**



### **Çalışma Protokolü (IL-17a);**

1. Boş kuyulara 100 µl **Sample Diluent** eklenir.
2. Numune kuyucuklarına 50 µL **Sample Diluent** eklenir.
3. Numune kuyucuklarına her örnekten 50 µl eklenir.
4. **Biyotin-Konjugatını** Hazırlanır.
5. Tüm kuyucuklara 50 µl **Biotin-Konjugat** eklenir.
6. Plate'i yapışkan filmle kaplayın ve oda sıcaklığında (18 ila 25 ° C) 2 saat boyunca inkübe edilir.
7. **Streptavidin-HRP**'yi hazırlanır.
8. Yapışkan filmi ve boş oyukları çıkarın. Stripleri, 4 kez yıkayın ve derhal test protokolünün bir sonraki adıma geçilir.
9. Boş kuyucuklar dahil, tüm kuyucuklara 100 ul seyreltilmiş **Streptavidin-HRP** eklenir.
10. Yapışkan filmle kaplayın ve oda sıcaklığında (18 ° ila 25 ° C) 1 saat inkübe edilir.
11. Yapışkan filmi ve boş oyukları çıkarın. Stripleri, 4 kez yıkayın ve derhal test protokolünün bir sonraki adıma geçilir.
12. Tüm kuyucuklara 100 µl **TMB Substrat Solüsyonu** pipetlenir.
13. Stripleri yaklaşık 10 dakika boyunca **karanlıkta**, oda sıcaklığında (18°-25° C) inkübe edilir (Plakadaki renk gelişimi izlenmeli ve pozitif kuyucuklar düzgün bir şekilde kaydedilemeden önce substrat reaksiyonu durdurulmalıdır. Renk gelişimi için ideal zaman aralığının belirlenmesi, her bir analiz için ayrı ayrı yapılmalıdır. En yüksek standart koyu mavi bir renk geliştirdiğinde durdurma çözümünün eklenmesi önerilir).
14. Her bir kuyucuğa 100 µl Stop Solüsyonunu hızla ekleyerek enzim reaksiyonunu durdurulur. Stop Solüsyonunun, enzimi tamamen etkisiz hale getirmek için kuyucuklar boyunca hızlı ve muntazam bir şekilde yayılması önemlidir. Sonuçlar, Stop Solüsyonu eklendikten hemen sonra okunmalıdır.
15. Her dalga boyunu bir spektro-fotometrede absorbanı birincil dalga uzunluğu olarak 450 nm kullanarak okunur ve hem örneklerin hem de standartların absorbanı belirlenir.

**Sonuçların Hesaplanması;** Her bir çift standart ve numune seti için ortalama absorbans değerleri hesaplanır. Duplikasyonlar, ortalama değerlerin yüzde 20'si içinde olmalıdır. Apsiste insan IL-6/10/17 konsantrasyonuna karşı ordinat üzerindeki her standart konsantrasyon için ortalama absorbansı çizerek standart bir eğri oluşturulur. Grafiğin noktaları arasında en uygun eğri çizilir (Kit, **5-parameter curve** veya **Lineer** önerir). Her örnek için serumdaki insan IL-6/10/17 konsantrasyonunu belirlemek için, önce ordinat üzerindeki ortalama absorbans değeri bulunur ve standart eğriye bir yatay çizgi uzatılır. Kesişme noktasında, apsise dikey bir çizgi uzatıp ve karşılık gelen insan IL-6/10/17 konsantrasyonu okunur yahut denklemin kullanılır.

**İstatistiksel Analiz;** Serum sitokin konsantrasyonlarındaki değişimlerin anlamlı olup olmadığı matematiksel teorem ile yahut uygun istatistik yazılım yardımı ile doğrulanmalıdır.

Analize geçmeden; öncelikle sayı serisi şeklindeki verilerin nasıl dağıldığı, değişkenin aldığı değerler frekansına bağlı olarak, normaliteye ne kadar yakın olduğu belirlenmelidir. Genellikle istatistik testler primer olarak verilerin normallik gösterdiğini varsayar bu yüzden de önce normalizasyon testleri yapılır; normalikten çok ciddi sapmalar yok ise de uygun testler seçilerek istatistik analize geçilir. Normalizasyon testi, Shapiro-Wilk( $n \leq 29$ ) ya da Kolmogorov-Smirnov( $n > 29$ )'a göre yapılır (61). Verilerin normal dağılması halinde parametrik istatistik testler yapılırken diğer durumda non-parametrik testler tercih edilir.

**Shapiro-Wilk Normalizasyon Testi;** Shapiro-Wilk(SW) testi çoğu durumda en güçlü ve çok amaçlı testtir. Son yıllarda, SW testi, çeşitli alternatif testlere kıyasla iyi güç özellikleri nedeniyle normalliğin tercih edilen testi haline gelmiştir. SW testi, verilen veriler ile bunlara karşılık gelen normal puanlar arasındaki korelasyona bağlıdır. “Anlamlı bir W değeri, araştırmacının dağılımın normal olduğu varsayımını reddetmesine neden olur. Bu test için test istatistiği **W**'dur, burada  $x_{(i)}$ , i.inci en büyük sıra istatistiği,  $\bar{x}$ , örneklerin aritmetik ortalamasıdır ve **n**, örnek sayısıdır (62).”

$$W = \frac{\left( \sum_{i=1}^n a_i X_{(i)} \right)^2}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}$$

Veri kümesindeki birkaç değer aynıysa Shapiro-Wilks iyi çalışmaz. Shapiro-Wilks, n<50 olan veri kümeleri için en iyi şekilde çalışır.

### SPSS'de analiz yapmak için:

- **Analyze > Descriptive Statistics > Explore**

Gelen ekranda Normalite için test edilmesi gereken X değişkeni, **Dependent List** kutusuna sürükleyip bırakarak aktarın. Plots butonuna basın, ekranda beliren **Normality Plots with tests** kutusunu işaretleyin, **Continue**, sonra **Ok** tıklayın. **Output**'lar, aşağıdaki örneklerde olduğu gibi ele geçer;

#### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IL_6_0.Gün n	,230	43	,000	,735	43	<b>0,000</b>

a. Lilliefors Significance Correction

**p<0,05 Veriler normal dağılmamıştır.**

#### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IL_10_60.Gün	,175	43	,002	,811	43	<b>0,000</b>

a. Lilliefors Significance Correction

**p<0,05 Veriler normal dağılmamıştır.**

## Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IL_17_60.Gün	,129	43	,072	,888	43	<b>0,001</b>

a. Lilliefors Significance Correction

**p<0,05 Veriler normal dağılmamıştır.**

**Wilcoxon Signed Rank Testi;** Wilcoxon Signed Rank Testi, eşlenik/ilişkili verilerin analizinde tercih edilir; iki uygulamanın birbirinin aynısı olup olmadığı yahut bir uygulamanın diğerinden iyi/kötü olup olmadığı yahut bu tez çalışmasında da olduğu gibi bir gruba yapılan bir uygulamadan (probiyotik gıda takviyesi) önceki ve sonraki ölçüm değerleri de eşlenik-çift (ilişkili) oluşturur (63). Yani bir çalışmaya konu olan örneklem iki hâlde ya da iki farklı kondisyonda değerlendiriliyorsa bu test uygundur. Null hipotezi;  $H_0$ : medyan farkı,  $M$ , sıfıra eşittir (Örneklemlerin alındığı iki ana kitle ortalaması arasında fark yoktur) şeklindedir.  $W$  değerinin ölçme olasılığını ( $W_k$ ) bulmak için Wilcoxon signed rank testi için kritik değerler tablosu kullanılır (64). Tablo hem tek taraflı hem de iki taraflı p değerlerini verir;  $W < W_k$  ise  **$H_0$  RED.**

Varsayım-1: Bağımlı değişkeniniz ordinal veya sürekli seviyede ölçülmelidir.

Varsayım-2: Bağımsız değişkeniniz iki kategorik, "ilgili grup" veya "eşleşen çift"lerden oluşmalıdır.

Varsayım-3: İlgili iki grup arasındaki farklılıkların dağılımının simetrik olması gerekmektedir.

Varsayım-4: Parametrik olmayan bir test olduğu için analizde bağımlı değişkenin özel bir dağılımını gerektirmez.

Wilcoxon, *dependent t-testi*'nin non-parametrik versiyonudur.

### SPSS de;

- 1) Analyze > Nonparametric Tests > Legacy Dialogs > 2 Related Samples
- 2) Wilcoxon kutusu işaretlenir,
- 3) Data, Test Pairs'e sürüklenir,
- 4) Options > Descriptive ve Quartiles seçilir,
- 5) Continue > Ok.

### Sonuç:

IL-6 için Test<sup>b</sup> İstatistikleri

<b>Çalışma Grubu</b>	IL_6(0.Gün)- IL_6(60.Gün)
<b>Z</b>	-3,417 <sup>a</sup>
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	0,001

- a. Pozitif Sıralamalara dayanmaktadır.
- b. Wilcoxon Signed Ranks Testi

0,001<0,01 => **H<sub>0</sub> RED.**

**“IL-6 için 0. ve 60. günler arasında anlamlı değişim(azalma) saptandı”** anlamına gelmektedir.

**Mann-Whitney U Testi;** Mann-Whitney U testi, eşleştirilmemiş t-testinin yerine kullanılabilen, parametrik olmayan bir testtir. “Bu test, iki örneğin aynı popülasyondan geldiği (diğer bir deyişle, medyanları aynı) veya alternatif olarak, bir numunedeki gözlemlerin diğerindeki gözlemlerden daha büyük olup olmadığına dair null hipotezini test etmek için kullanılır. Parametrik olmayan bir test olmasına rağmen, iki dağılımın şekil olarak benzer olduğunu varsayar. İki bağımsız (ilişkisiz) örneklemden elde edilen puanların arasında anlamlı bir fark olup olmadığını anlamak için kullanılan en güçlü non-parametrik tekniktir (65).” Kısaca, iki dağılım fonksiyonunun farklı olacağı alternatif hipotezine karşı iki evrenin aynı dağılım fonksiyonuna sahip olduğu null hipotezini test etmek üzere kullanılır.

Sürekli değişkenleri her iki örneklem için de sıralı hâle sokar ve iki örneklem arasındaki sıralamanın aynı olup olmadığını test eder. Veriler sıralı hâle getirildiği için,



verilerin gerçek dağılımları önemsizdir artık. “**Mann-Whitney U testi; <İki bağımsız örneğin aynı ana kitleden gelip gelmediğini> ya da <Örneklerin alındığı ana kitlelerin birbirisinin aynı olup olmadığını> test eder (65).**”

Varsayım-1: Bağımlı değişken sıralı veya sürekli bir ölçekte ölçülmelidir.

Varsayım-2: Bağımsız değişken iki bağımsız, kategorik grup olmalıdır.

Varsayım-3: Gözlemler bağımsız olmalıdır. Diğer bir deyişle, iki grup arasında ya da her grupta ilişki olmamalıdır.

Varsayım-4: Gözlemler normal olarak dağılmamıştır. Bununla birlikte, aynı şeklen aynı olmalıdır (Örneğin, her ikisi de *çan-şekil* veya *sol/sağ çarpık dağılım* gibi).

Bir grupta (yani bir popülasyondan)  $n_x$  gözlemlerinden oluşan bir örnek aldığımızı varsayalım  $\{x_1, x_2, \dots, x_n\}$  ve başka bir grupta (yani başka bir popülasyondan)  $n_y$  gözlemlerinin bir örneğini  $\{y_1, y_2, \dots, y_n\}$ . Mann-Whitney testi, ilk örnekteki her gözlem  $x_i$ 'nin, diğer örnekteki her gözlem  $y_j$  ile karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Yapılabilecek toplam ikili karşılaştırma sayısı  $n_x \cdot n_y$ 'dir.

Numunelerin medyanı aynı ise, her bir  $x_i$ , her bir  $y_j$ 'den daha büyük veya daha küçük olma şansına sahiptir (olasılık = 1/2) . Yani;

$$H_0: P(x_i > y_j) = 1/2$$

$$H_1: P(x_i > y_j) \neq 1/2$$

**SPSS de;**

**1. Analyze > Nonparametric Tests > Legacy Dialogs > 2 Independent Samples**

**2. Mann-Whitney U** kutusu işaretlenir,

**3. Data, Test Variable List**'e sürüklenir,

**4. Define Groups**, X ve Y ya da 1 ve 2 vb.. yazılır, **Ok.**

**5. Analyze > Compare Means > Means. Options > Median, Cell Statistics** e sürüklenir.

## 6. Continue, Ok.

Çıktı şu şekildedir;

Test Statistics <sup>a</sup>	
	Fark_IL_6
Mann-Whitney U	<b>101,500</b>
Wilcoxon W	354,500
Z	-3,147
Asymp. Sig. (2-tailed)	<b>,002</b>

a. Grouping Variable: Grup

Görüldüğü gibi;

$$U = 101,5$$

$$Z = -3,147 \text{ ve}$$

$$p = 0,002 < 0,05 \text{ olarak ele geçer.}$$

## 6. BULGULAR

Tablo 6.1 Deney Grubu Klinik ve Demografik Bilgiler

Deney Grubu	Cinsiyet	Yaş	Hastalık Süresi(YIL)	Kullandığı İlaç Etken Madde	EDSS Skoru
H-1	E	37	2	Glatiramer Asetat	1,5
H-2	K	28	1	Ø	1
H-3	K	41	21	Fingolimod	2,5
H-4	K	20	1	Glatiramer Asetat	2
H-5	K	37	13	Natalizumab	4
H-6	E	38	9	Teriflunomid	1
H-7	E	33	9	dimethyl Fumarat	5
H-8	E	50	14	Fingolimod	3
H-9	K	41	1	dimethyl Fumarate	3,5
H-10	E	45	10	Fingolimod	3,5
H-11	K	29	2	Fingolimod	1,5
H-12	E	54	14	Glatiramer Asetat	2,5
H-13	K	35	2	dimethyl Fumarate	1,5
H-14	K	41	1	Glatiramer Acetate	3
H-15	K	41	1	Glatiramer Asetat	1,5
H-16	K	42	6	Ø	2
H-17	E	24	2	Fingolimod	2,5
H-18	K	26	1	Ø	2
H-19	E	40	13	dimethyl Fumarate	2
H-20	E	28	4	Glatiramer Asetat	2
H-21	E	30	6	Glatiramer Asetat	2,5
<b>Ort.</b>		<b>36,19</b>	<b>6,33</b>		<b>2,38</b>
<b>S.E.</b>		<b>8,6059</b>	<b>5,9188</b>		<b>1,0112</b>

Tablo 6.2 Kontrol Grubu Klinik ve Demografik Bilgiler

Kontrol Grubu	Cinsiyet	Yaş	Hastalık Süresi(YIL)	Kullandığı İlaç Etken Madde	EDSS Skoru
K-1	K	41	11	Fingolimod	3
K-2	E	46	9	Fingolimod	1
K-3	K	52	1	Glatiramer Asetat	1,5
K-4	E	27	6	Fingolimod	3
K-5	K	36	1	Glatiramer Asetat	1,5
K-6	E	28	2	Fingolimod	5
K-7	K	27	4	Teriflunomide	1,5
K-8	K	55	1	Glatiramer Asetat	3,5
K-9	K	31	3	Glatiramer Asetat	1
K-10	E	21	1	Ø	1,5
K-11	K	46	7	Teriflunomide	1
K-12	K	35	13	Natalizumab	3
K-13	K	24	3	Glatiramer Acetate	1,5
K-14	E	28	10	Fingolimod	1
K-15	K	38	3	Glatiramer Asetat	1,5
K-16	E	26	4	interferon beta-1a	1
K-17	K	37	12	Fingolimod	5,5
K-18	K	30	1	Ø	1
K-19	K	43	7	Glatiramer Asetat	2
K-20	K	47	6	Glatiramer Asetat	1
K-21	K	17	3	İnterferon beta-1b	2,5
K-22	E	21	1	Ø	1
<b>Ort.</b>	-	<b>34,36</b>	<b>4,95</b>	-	<b>2,02</b>
<b>S.E.</b>	-	<b>10,6124</b>	<b>3,9215</b>	-	<b>1,3136</b>

Tablo 6.3 Deney Grubu IL-6 O.D ve serum konsantrasyon değerleri

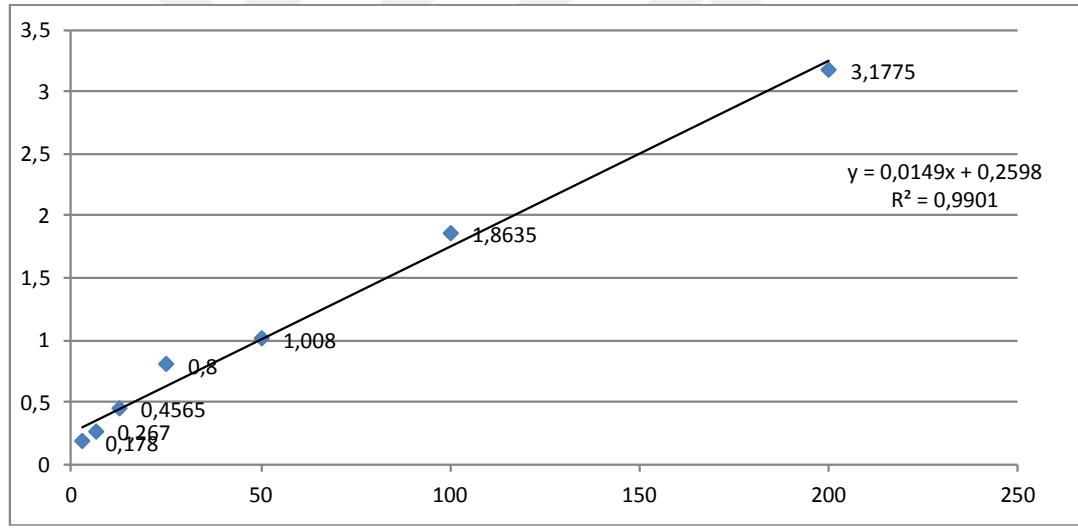
	<b>0. GÜN</b>	<b>60. GÜN</b>	<b>0. GÜN</b>	<b>60. GÜN</b>	
<b>Deney Grubu</b>	<b>O.D.</b>	<b>O.D.</b>	<b>kons. pg/mL</b>	<b>kons. pg/mL</b>	<b>Fark</b>
Hasta-1	0,51	0,41	16,7919463	10,0805369	6,7114
Hasta-2	0,495	0,535	15,7852349	18,4697987	-2,6846
Hasta-3	0,535	0,515	18,4697987	17,1275168	1,3423
Hasta-4	0,48	0,405	14,7785235	9,74496644	5,0336
Hasta-5	0,667	0,519	27,3288591	17,3959732	9,9329
Hasta-6	0,49	0,415	15,4496644	10,4161074	5,0336
Hasta-7	0,76	0,59	33,5704698	22,1610738	11,4094
Hasta-8	0,5	0,41	16,1208054	10,0805369	6,0403
Hasta-9	0,55	0,475	19,4765101	14,442953	5,0336
Hasta-10	0,695	0,63	29,2080537	24,8456376	4,3624
Hasta-11	0,73	0,645	31,557047	25,852349	5,7047
Hasta-12	0,59	0,47	22,1610738	14,1073826	8,0537
Hasta-13	0,505	0,49	16,4563758	15,4496644	1,0067
Hasta-14	0,925	0,74	44,6442953	32,2281879	12,4161
Hasta-15	1,03	0,81	51,6912752	36,9261745	14,7651
Hasta-16	0,505	0,525	16,4563758	17,7986577	-1,3423
Hasta-17	0,575	0,515	21,1543624	17,1275168	4,0268
Hasta-18	0,485	0,485	15,114094	15,114094	0,0000
Hasta-19	0,61	0,5	23,5033557	16,1208054	7,3826
Hasta-20	0,705	0,715	29,8791946	30,5503356	-0,6711
Hasta-21	0,91	0,92	43,6375839	44,3087248	-0,6711
<b>Ort.</b>			<b>24,9159</b>	<b>20,0166</b>	<b>4,8993</b>
Std. Sapma			10,9034	9,3545	4,7663
Std. Hata			2,3793	2,0413	1,0401

Tablo 6.4 Kontrol Grubu IL-6 O.D ve serum konsantrasyon değerleri

<b>Kontrol Grubu</b>	<b>O.D. 0. Gün</b>	<b>O.D. 60. Gün</b>	<b>kons.(pg/mL) 0. Gn</b>	<b>kons.(pg/mL) 60. Gn</b>	<b>Fark</b>
K-1	0,545	0,58	19,1409396	21,48993289	-2,349
K-2	0,42	0,435	10,75167785	11,75838926	-1,0067
K-3	0,51	0,477	16,79194631	14,57718121	2,21477
K-4	0,49	0,428	15,44966443	11,2885906	4,16107
K-5	1,535	1,478	85,58389262	81,75838926	3,8255
K-6	0,515	0,552	17,12751678	19,61073826	-2,4832
K-7	0,485	0,47	15,11409396	14,10738255	1,00671
K-8	0,515	0,533	17,12751678	18,33557047	-1,2081
K-9	0,75	0,716	32,89932886	30,61744966	2,28188
K-10	0,545	0,489	19,1409396	15,38255034	3,75839
K-11	0,465	0,477	13,77181208	14,57718121	-0,8054
K-12	0,74	0,703	32,22818792	29,74496644	2,48322
K-13	0,455	0,449	13,10067114	12,69798658	0,40268
K-14	0,385	0,359	8,402684564	6,657718121	1,74497
K-15	0,47	0,481	14,10738255	14,84563758	-0,7383
K-16	0,54	0,5	18,80536913	16,12080537	2,68456
K-17	0,585	0,601	21,82550336	22,89932886	-1,0738
K-18	0,485	0,467	15,11409396	13,90604027	1,20805
K-19	0,465	0,476	13,77181208	14,51006711	-0,7383
K-20	0,43	0,411	11,42281879	10,14765101	1,27517
K-21	0,57	0,596	20,81879195	22,56375839	-1,745
K-22	0,955	0,933	46,65771812	45,18120805	1,47651
<b>Ort.</b>			21,7797	21,0354	<b>0,7444</b>
Std. Sapma			16,6387	15,9589	2,03482
Std. Hata			3,5474	3,4024	0,4338

Tablo 6.5 IL-6 Standard Dilüsyonlarının O.D Değerleri

Standardlar pg/mL	O.D
200	3,1775
100	1,8635
50	1,008
25	0,8
12,5	0,4565
6,3	0,267
3,1	0,178



Şekil 6.1 IL-6 Standard Eğrisi ( Tablo 6.5 e göre Lineer Çizilmiştir)

Tablo 6.6 Deney Grubu IL-10 O.D ve serum konsantrasyon değerleri

	<b>0. GÜN</b>	<b>60. GÜN</b>	<b>0. GÜN</b>	<b>60. GÜN</b>	
<b>Deney Grubu</b>	<b>O.D.</b>	<b>O.D.</b>	<b>kons. pg/mL</b>	<b>kons. pg/mL</b>	<b>Fark</b>
Hasta-1	0,2125	0,255	3,69565217	8,31521739	-4,6196
Hasta-2	0,215	0,2975	3,9673913	12,9347826	-8,9674
Hasta-3	0,255	0,2525	8,31521739	8,04347826	0,27174
Hasta-4	0,2325	0,208	5,86956522	3,20652174	2,66304
Hasta-5	0,2025	0,295	2,60869565	12,6630435	-10,054
Hasta-6	0,2375	0,2925	6,41304348	12,3913043	-5,9783
Hasta-7	0,2625	0,355	9,13043478	19,1847826	-10,054
Hasta-8	0,2775	0,205	10,7608696	2,88043478	7,88043
Hasta-9	0,26	0,225	8,85869565	5,05434783	3,80435
Hasta-10	0,2575	0,265	8,58695652	9,40217391	-0,8152
Hasta-11	0,215	0,255	3,9673913	8,31521739	-4,3478
Hasta-12	0,2575	0,265	8,58695652	9,40217391	-0,8152
Hasta-13	0,2275	0,32	5,32608696	15,3804348	-10,054
Hasta-14	0,255	0,2675	8,31521739	9,67391304	-1,3587
Hasta-15	0,24	0,26	6,68478261	8,85869565	-2,1739
Hasta-16	0,23	0,24	5,59782609	6,68478261	-1,087
Hasta-17	0,3	0,2625	13,2065217	9,13043478	4,07609
Hasta-18	0,22	0,245	4,51086957	7,22826087	-2,7174
Hasta-19	0,2925	0,3025	12,3913043	13,4782609	-1,087
Hasta-20	0,31	0,33	14,2934783	16,4673913	-2,1739
Hasta-21	0,295	0,3225	12,6630435	15,6521739	-2,9891
<b>Ort.</b>			<b>7,7976</b>	<b>10,2070</b>	<b>-2,4094</b>
Std. Sapma			3,4015	4,3131	4,84469
Std. Hata			0,7423	0,9412	1,057

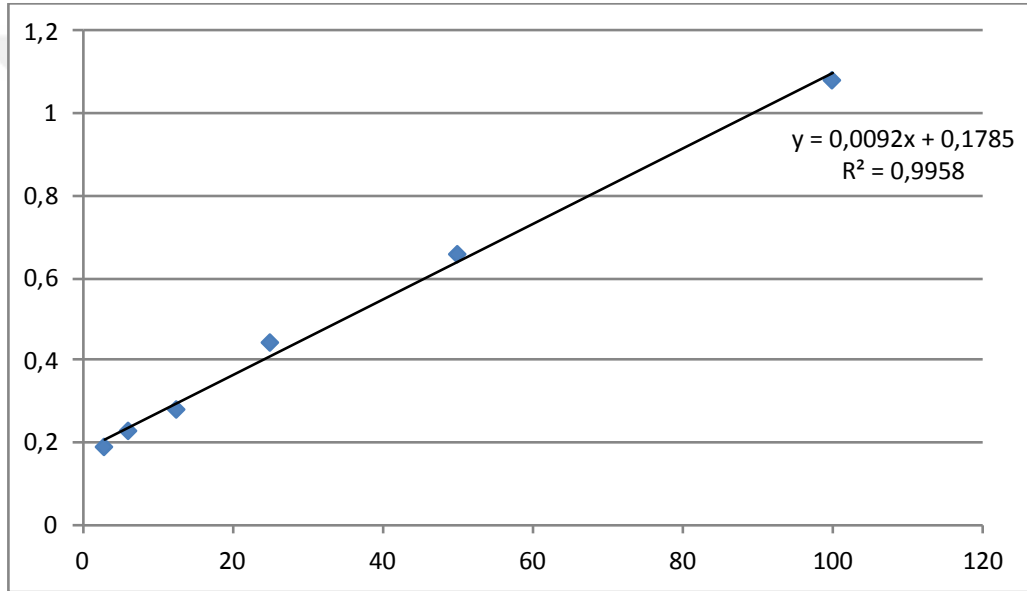


Tablo 6.7 Kontrol Grubu IL-10 O.D ve serum konsantrasyon değerleri

	<b>0. GÜN</b>	<b>60.GÜN</b>	<b>0. GÜN</b>	<b>60. GÜN</b>	
<b>Kontrol Grubu</b>	<b>O.D.</b>	<b>O.D.</b>	<b>kons. pg/mL</b>	<b>kons. pg/mL</b>	<b>Fark</b>
K-1	0,265	0,277	9,402173913	10,70652174	-1,3043
K-2	0,2325	0,239	5,869565217	6,576086957	-0,7065
K-3	0,2475	0,241	7,5	6,793478261	0,70652
K-4	0,2425	0,245	6,956521739	7,22826087	-0,2717
K-5	0,24	0,255	6,684782609	8,315217391	-1,6304
K-6	0,2775	0,28	10,76086957	11,0326087	-0,2717
K-7	0,2275	0,22	5,326086957	4,510869565	0,81522
K-8	0,2175	0,225	4,239130435	5,054347826	-0,8152
K-9	0,2575	0,259	8,586956522	8,75	-0,163
K-10	0,2475	0,25	7,5	7,77173913	-0,2717
K-11	0,24	0,227	6,684782609	5,27173913	1,41304
K-12	0,2825	0,271	11,30434783	10,05434783	1,25
K-13	0,24	0,244	6,684782609	7,119565217	-0,4348
K-14	0,2825	0,29	11,30434783	12,11956522	-0,8152
K-15	0,255	0,25	8,315217391	7,77173913	0,54348
K-16	0,22	0,231	4,510869565	5,706521739	-1,1957
K-17	0,2475	0,26	7,5	8,858695652	-1,3587
K-18	0,2775	0,269	10,76086957	9,836956522	0,92391
K-19	0,305	0,329	13,75	16,35869565	-2,6087
K-20	0,2525	0,247	8,043478261	7,445652174	0,59783
K-21	0,2225	0,229	4,782608696	5,489130435	-0,7065
K-22	0,475	0,481	32,22826087	32,88043478	-0,6522
<b>Ort.</b>			9,0316	9,3478	<b>-0,3162</b>
Std. Sapma			5,7385	5,9223	1,0156
Std. Hata			1,2235	1,2626	0,2165

Tablo 6.8 IL-10 Standard Dilüsyonlarının O.D Değerleri

Standartlar IL-10 (pg/mL)	O.D
100	1,0795
50	0,658
25	0,442
12,5	0,2775
6,3	0,23
3,1	0,19



Şekil 6.2 IL-10 Standard Eğrisi ( Tablo 6.8 e göre Lineer Çizilmiştir)

Tablo 6.9 Deneş Grubu IL-17a O.D ve serum konsantrasyon değerleri

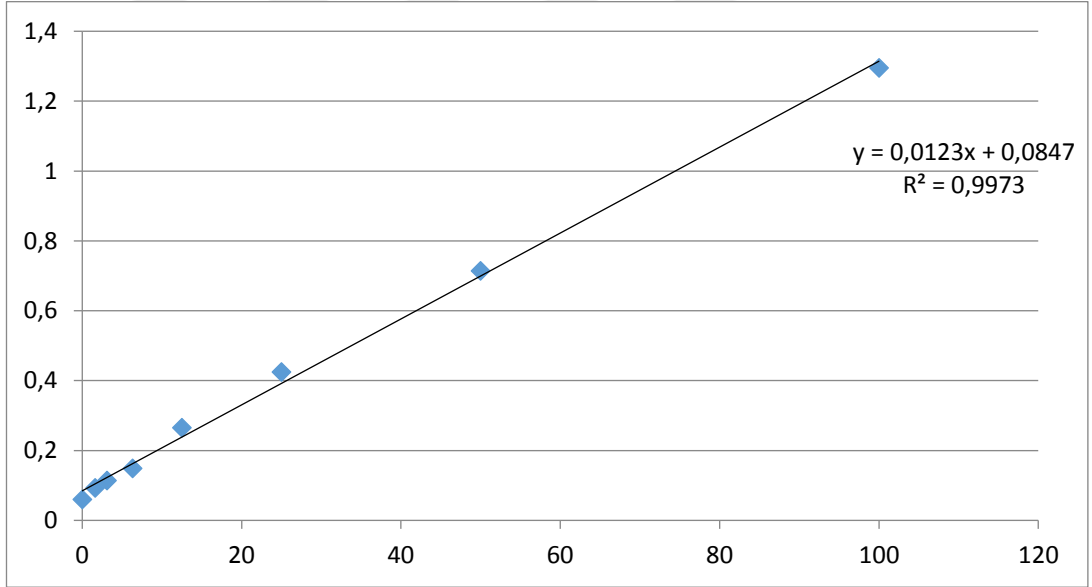
	0. GÜN	60. GÜN	0. GÜN	60. GÜN	
Deneş Grubu	O.D.	O.D.	kons. pg/mL	kons. pg/mL	Fark
Hasta-1	0,185	0,1775	8,154471545	7,54471545	0,60976
Hasta-2	0,155	0,15	5,715447154	5,30894309	0,4065
Hasta-3	0,1425	0,14	4,699186992	4,49593496	0,20325
Hasta-4	0,14	0,14	4,495934959	4,49593496	0
Hasta-5	0,14	0,1375	4,495934959	4,29268293	0,20325
Hasta-6	0,1375	0,135	4,292682927	4,08943089	0,20325
Hasta-7	0,145	0,1325	4,902439024	3,88617886	1,01626
Hasta-8	0,135	0,1475	4,089430894	5,10569106	-1,0163
Hasta-9	0,1375	0,13	4,292682927	3,68292683	0,60976
Hasta-10	0,1475	0,115	5,105691057	2,46341463	2,64228
Hasta-11	0,14	0,1375	4,495934959	4,29268293	0,20325
Hasta-12	0,143	0,139	4,739837398	4,41463415	0,3252
Hasta-13	0,1375	0,1325	4,292682927	3,88617886	0,4065
Hasta-14	0,135	0,1325	4,089430894	3,88617886	0,20325
Hasta-15	0,14	0,135	4,495934959	4,08943089	0,4065
Hasta-16	0,1375	0,1275	4,292682927	3,4796748	0,81301
Hasta-17	0,135	0,1275	4,089430894	3,4796748	0,60976
Hasta-18	0,1375	0,135	4,292682927	4,08943089	0,20325
Hasta-19	0,1325	0,1275	3,886178862	3,4796748	0,4065
Hasta-20	0,14	0,131	4,495934959	3,76422764	0,73171
Hasta-21	0,1425	0,1425	4,699186992	4,69918699	0
<b>Ort.</b>			4,6721	4,2346	<b>0,43748</b>
Std. Sapma			0,8937	0,9763	0,64632
Std. Hata			0,1950	0,2130	0,141

Tablo 6.10 Kontrol Grubu IL-17 O.D ve serum konsantrasyon değerleri

	<b>0. GÜN</b>	<b>60. GÜN</b>	<b>0. GÜN</b>	<b>60. GÜN</b>	
<b>Kontrol Grubu</b>	<b>O.D.</b>	<b>O.D.</b>	<b>kons. pg/mL</b>	<b>kons. pg/mL</b>	<b>Fark</b>
K-1	0,1275	0,135	3,479674797	4,075609756	-0,5959
K-2	0,1275	0,125	3,479674797	3,262601626	0,21707
K-3	0,135	0,1325	4,089430894	3,872357724	0,21707
K-4	0,1275	0,1325	3,479674797	3,872357724	-0,3927
K-5	0,14	0,1475	4,495934959	5,091869919	-0,5959
K-6	0,135	0,135	4,089430894	4,075609756	0,01382
K-7	0,1375	0,1375	4,292682927	4,278861789	0,01382
K-8	0,135	0,1425	4,089430894	4,685365854	-0,5959
K-9	0,1375	0,14	4,292682927	4,482113821	-0,1894
K-10	0,135	0,145	4,089430894	4,888617886	-0,7992
K-11	0,1275	0,1325	3,479674797	3,872357724	-0,3927
K-12	0,1375	0,14	4,292682927	4,482113821	-0,1894
K-13	0,14	0,14	4,495934959	4,482113821	0,01382
K-14	0,145	0,1525	4,902439024	5,498373984	-0,5959
K-15	0,1375	0,1425	4,292682927	4,685365854	-0,3927
K-16	0,14	0,1425	4,495934959	4,685365854	-0,1894
K-17	0,14	0,145	4,495934959	4,888617886	-0,3927
K-18	0,135	0,14	4,089430894	4,482113821	-0,3927
K-19	0,145	0,1375	4,902439024	4,278861789	0,62358
K-20	0,1425	0,145	4,699186992	4,888617886	-0,1894
K-21	0,14	0,145	4,495934959	4,888617886	-0,3927
K-22	0,1375	0,1425	4,292682927	4,685365854	-0,3927
<b>Ort.</b>			4,2188	4,4729	<b>-0,2541</b>
Std. Sapma			0,4279	0,4998	0,3342
Std. Hata			0,0912	0,1066	0,0713

Tablo 6.11 IL-17 Standard Dilüsyonlarının O.D Değerleri

Standardlar IL-17a (pg/mL)	O.D
100	1,296
50	0,715
25	0,425
12,5	0,266
6,3	0,149
3,1	0,114
1,6	0,093
0	0,06



Şekil 6.3 IL-17 Standard Eğrisi ( Tablo 6.11 e göre Lineer Çizilmiştir)

## 7. TARTIŞMA

MS; kronik, immün sistem aracılı, demiyelinizasyon ve aksonal hasarla giden bir santral sinir sistem (SSS) bozukluğudur. Normalde proenflamatuar (Th<sub>1</sub>/Th<sub>17</sub>) ve antiinflammatuar (Th<sub>2</sub>) sitokinler arasında ince bir denge söz konusudur. MS'te bu denge proenflamatuar sitokinler lehine bozulmuştur. Proenflamatuar sitokinlerde (IL-6/IL-17) azalma, antiinflammatuar sitokinlerde (IL-10) artış sağlanması MS'te prognoza olumlu etkisi olacaktır. Probiyotikler, bağırsaklarda doğal immüniteyi ve antiinflammatuar sitokin yapımını arttırarak ve proenflamatuar sitokin yapımını inhibe ederek immün regulator rol oynarlar ancak bunun için önce mukozaya tutunmaları ve kolonizasyon sağlamaları şarttır (56-58).

Biz çalışmamızda kefir takviyesinin immün-sistem hücrelerine etki edip sitokinler yoluyla bir modülasyon/antiinflammatuar etki sağlayarak MS tedavisine ek olarak olumlu katkı yapıp yapamayacağını araştırmayı hedefledik. Deney Grup (iki ay süreyle kefir gıda takviyesi alan) (n=21) ve Kontrol Gruptaki (kefir almayan) (n=22) hastalardan 0. ve 60. gün serum örnekleri alınıp IL-6, IL-10 ve IL-17 ölçümleri ELISA yöntemiyle yapılmıştır.

Ortalama olarak kefir içen grupta **IL-6** 4,89 pg/mL (p:0,001) azalmış olarak saptandı. Bir çalışmada MS'li hastaların aktif plaklarında artmış IL-6 seviyeleri bulunmuştur (67). Diğer bir çalışmada IL-6'nın TH<sub>17</sub> ve düzenleyici T hücreler (Tregs) arasındaki dengeyi kontrol ettiği gösterilmiştir (68). Transgenik fareler kullanılarak yapılan güncel çalışmalar, periferal IL-6'nın yokluğunda dahi SSS'de IL-6 üretiminin, otoimmün süreçleri indüklemek için tek başına yeterli olduğunu gösterdi (69,70). "MS'te IL-6, T-hücre fonksiyonunu etkiler bu da vasküler endotelial hücreler üzerinde VCAM-1'in upregülasyonu ile T-hücre proliferasyonunu ve T-hücrelerin SSS'e infiltrasyonu indükler. Deneysel bir MS modelinde IL-6 reseptörü bloke edilmiş ve Th<sub>1</sub>/Th<sub>17</sub> hücrelerinin indüksiyonu önlenmiş, hastalık gelişimi engellenmiş (71). Şunu da ekleyebiliriz ki IL-6 baskılanması, muhtemelen MS'de immün-mediated doku hasarını azaltacaktır (72). Kefir kullanan hasta grubumuzdaki proenflamatuar olan IL-6'nın azalmış olması birçok çalışmadaki gibi prognozda olumlu katkı sağlayabilir.

IL-10 temel antiinflamatuar sitokin olarak MS ile ilişkilidir, Th<sub>1</sub> cevabı önleyici bir sitokin olarak işlev gören enflamatuar ağların regülasyonunda ve kontrolünde rol oynar. IL-10'un bu koruyucu rolü muhtemelen IL-6, IL-12 vb. güçlü proinflamatuar sitokinler üzerindeki inhibitör aktiviteleri ile ilişkilidir. MS'li hastalarda kontrol bireylerine göre daha yüksek sayıda IL-6 ve IL-12 mRNA içeren periferik kan mononükleer hücresi (PBMC) bulunur (73-75). Başka bir vaka-kontrol çalışmasında sağlıklı gönüllülere nazaran MS hastalarında düşük serum IL-10 seviyeleri ölçülmüş ek olarak IL-10 salgılayan periferik B lenfositleri anlamlı olarak az tespit edilmiştir (76). Çalışmamızda Deney grupta (iki ay süreyle kefir gıda takviyesi alan) (n=21) **IL-10** düzeyi 2,41 pg/mL(p:0,027) artmış olarak saptandı ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Böylece **immün-supresif/antiinflamatuar/inhibitör** sitokin **IL-10**'da artış saptanmış olması hastalığın iyi seyirli gidişinde çok faydalı olabilir.

MS ve onun deneysel modeli EAE, tarihsel olarak Th<sub>17</sub> hücrelerinin keşfiyle ilişkilendirilmiştir (77-79). Bununla birlikte, MS lezyonlarında ve ayrıca periferik kanda artmış IL-17A seviyeleri, Th<sub>17</sub> hücrelerinin tanımlanmasından önce belirlenmiştir (80). İnsan TH<sub>17</sub> hücrelerinin kan-beyin bariyerini etkili bir şekilde geçtiği ve buna bağlı merkezi sinir sistemi inflamasyonunu teşvik ettiği multipl skleroz lezyonlarında gösterilmiştir (79,81). IL-17 seviyeleri ile MS'in şiddeti ve progresyonu arasında doğru-orantı vardır. Yüksek Th<sub>17</sub> aktivesi, SSS'de inflamasyon ilişkili durumların birçoğu ile beraber görülür ve en çok MS ile ilişkilendirilmiştir; Yüksek Th<sub>17</sub> aktivesinin, kan-beyin bariyerinde bozulma, astrosit ve microgliaların aşırı aktivasyonu, vb ile ilişkili olabileceği ve IL-17 baskılanmasının MS patolojisine olumlu katkı vereceği iddia edilmiştir (82). Çalışmamızda bakılan IL-17 ortalama olarak kefir içen grupta 0,44 pg/mL (p:0,001) azalmış bulunması diğer çalışmalardaki gibi inflamasyonu azaltmada rolü olabilir, sonuç olarak prognoza katkı sağlayabilir.

MS, son yıllarda batıda gelişmiş ülkelerde insidansı sürekli artan bir hastalıktır. Genetik, epigenetik ve çevresel faktörler zemininde oluşan MS hastalarının tedavisinde immunmodulatuar, immünsüpresan ilaçlarının yanı sıra D vitamini takviyesi atak sıklığını azaltmaktadır. Benzer şekilde beslenme ve gut mikrobiyom ile MS arası ilişkiyi anlamaya yönelik çalışmalar da devam etmektedir. Örneğin yerel beslenme alışkanlıklarının batılılaşmasının, vücudun bağışıklık sistemini büyük

ölçüde değiştirdiği ve Japonya'daki MS artışına yol açabileceği öngörülmektedir (83). İster geleneksel ister ticari ürün olsun her probiyotik ürün efektif fonksiyonel etki göstermeye yetecek kadar canlı bakteri içermez ve bu bakterilerin probiyotikler için kabul edilmiş olan kriterlerin hepsine sahip olduğu söylenemez. Kefir en yüksek fonksiyonel kaliteye sahip ürünlerden biri olması bakımından son derece önemlidir.

İmmünmodulasyon, primer olarak Bağırsak İlişkili Lenfoid Doku, *GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue)*, aracılığı ile olur. GALT ve mikrobiyota arası iş birliği önemlidir. İmmünkompetan hücreler en çok barsak mukazada bulunur. İmmün sistemdeki B hücrelerin %80 i , T hücrelerin %60 ı GALT'da bulunur. Probiyotikler, Treg lerde IL-10, TGF başta olmak üzere antienflamatuar sitokini artırır; proenflamatuar sitokini azaltırlar. Ayrıca istenmeyen immün yanıt ve otoimmün reaksiyonları azaltırlar (84).

Kefirin immün-sistem hücrelerine etki edip sitokinler yoluyla bir modulasyon/antienflamatuar etki sağlayarak MS tedavisine ek olarak olumlu katkı yapıp yapamayacağını araştırdığımız bu çalışmada birçok suş kullanılmıştır; Bakteri türleri ve ek olarak maya türleri bakımından zengin kefir bu yüzden son derece önemlidir. Bu bakımdan sadece birkaç suş içeren kapsüllere nazaran kendi doğal matriksini ve yardımcı öğelerini içeren probiyotikten zengin kefir içeceğinin çok daha faydalı olacağına düşünöyoruz.

Çalışmamızın 2 ay kadar kısa sürmesinin klinik değerlendirme yapma konusunda kısıtlayıcı yanı olsa da kefir içen gruptaki hastalar bu sürede atak geçirmemiştir. Bu çalışmanın sonucunda kefir içen grupta proenflamatuar sitokinde azalma, antienflamatuar sitokinde artış saptanmış olması hastalığın prognozunda olumlu katkı sağlayabileceği, bu doğrultuda kefirin MS hastalarının diyetinde faydalı olabileceği, tedaviye ek olarak kullanılmasının önerilebileceği kanısına varılmıştır.



## 8. SONUÇLAR

İstatistiksel analizler SPSS 18.0 paket programında yapıldı. Veriler ortalama ve standart sapma şeklinde gösterildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu **Shapiro-Wilk** yöntemi ile test edildi. Verilerin normal dağılım göstermediği saptandı. Bu nedenle değişkenler non-parametrik testlerden **Wilcoxon Signed Rank** ve **Mann-Whitney U** testleri ile analiz edildi. **p<0.05** olasılık değeri anlamlı kabul edildi.

Bu çalışmanın hipotezi Probiyotik Kefir takviyesi sonucu hastalarda serum IL düzeylerinde anlamlı değişim gözükceği şeklinde belirlenmişti. Buna binaen Deney grubta 0. ve 60. gün serum IL konsantrasyonları mukayese edildi. Değişkenlerin 0. ve 60. günlerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanıldı.

Tablo 8.1 IL-6 için Grup İstatistikleri

Deney Grubu	IL-6 (0. gün)	IL-6 (60. gün)
N	21	21
Ort.	24,9159	20,0166
S.D.	10,9034	9,3546
S.E.	2,3793	2,0413

Tablo 8.2 IL-6 için Test<sup>b</sup> İstatistikleri

Deney Grubu	IL_6(0.Gün)- IL_6(60.Gün)
Z	-3,417 <sup>a</sup>
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,001

a. Pozitif Sıralamalara dayanmaktadır.

b. Wilcoxon Signed Ranks Testi

$p>0,05$   $H_0$ : Örneklemelerin alındığı iki ana kitle ortalaması arasında anlamlı fark yoktur; Kefir öncesi ve sonrası değerler arasında fark yoktur.

$p<0,05$   $H_1$ : Örneklemelerin alındığı iki ana kitle ortalaması arasında anlamlı fark vardır; Kefir öncesi ve sonrası değerler arasında fark vardır.

**Sonuç:**

$0,001 < 0,01 \Rightarrow H_0$  **RED.**

**IL-6 için 0. ve 60. günler arasında anlamlı değişim(azalma) saptandı.**

Tablo 8.3 IL-10 için Grup İstatistikleri

Deney Grubu	IL-10 (0. gün)	IL-10 (60. gün)
N	21	21
Ort.	7,7976	10,2070
S.D.	3,4015	4,3131
S.E.	0,7423	0,9412

Tablo 8.4 IL-10 için Test<sup>b</sup> İstatistikleri

Deney Grubu	IL_10(0.Gün)- IL_10(60.Gün)
Z	-2,207 <sup>a</sup>
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,027

a. Negatif Sıralamalara dayanmaktadır.

b. Wilcoxon Signed Ranks Testi

$p > 0,05$   $H_0$ : Örneklemelerin alındığı iki ana kitle ortalaması arasında anlamlı fark yoktur; Kefir öncesi ve sonrası değerler arasında anlamlı fark yoktur.

$p < 0,05$   $H_1$ : Örneklemelerin alındığı iki ana kitle ortalaması arasında anlamlı fark vardır; Kefir öncesi ve sonrası değerler arasında anlamlı fark vardır.

**Sonuç:**

$0,027 < 0,05 \Rightarrow H_0$  **RED.**

**IL-10 için 0. ve 60. günler arasında anlamlı değişim(artış) saptandı.**

Tablo 8.5 IL-17 için Grup İstatistikleri

<b>Deney Grubu</b>	<b>IL-17 (0. gün)</b>	<b>IL-17 (60. gün)</b>
<b>N</b>	21	21
<b>Ort.</b>	4,6721	4,2346
<b>S.D.</b>	0,8937	0,9763
<b>S.E.</b>	0,1950	0,2130

Tablo 8.6 IL-17 için Test<sup>b</sup> İstatistikleri

<b>Deney Grubu</b>	<b>IL_17(0.Gün)- IL_17(60.Gün)</b>
<b>Z</b>	-3,105 <sup>a</sup>
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	<b>0,002</b>

a. Pozitif Sıralamalara dayanmaktadır.

b. Wilcoxon Signed Ranks Testi

$p > 0,05$   $H_0$ : Örneklemelerin alındığı iki ana kitle ortalaması arasında anlamlı fark yoktur; Kefir öncesi ve sonrası değerler arasında fark yoktur.

$p < 0,05$   $H_1$ : Örneklemelerin alındığı iki ana kitle ortalaması arasında anlamlı fark vardır; Kefir öncesi ve sonrası değerler arasında anlamlı fark vardır.

### **Sonuç:**

$0,002 < 0,01 \Rightarrow H_0$  **RED.**

**IL-17 için 0. ve 60. günler arasında anlamlı değişim(azalış) saptandı.**

Hasta grubunda yapılan bu karşılaştırmalar (0.gün-60.gün), çalışmanın hipotezi için yeterli olmakla birlikte destek mahiyetinde Mann-Whitney U yöntemi ile hasta grubundaki 0.gün-60.gün farkları ile kontrol grubundaki 0.gün-60.gün farkları da karşılaştırıldı yani “Fark” ile “Fark”ın mukayesesi de yapılmış oldu.

Tablo 8.7 Fark(IL-6) için Grup İstatistikleri

	<b>Fark (IL-6 Deney)</b>	<b>Fark (IL-6 Kontrol)</b>
<b>N</b>	21	22
<b>Ort.</b>	4,8993	0,7444
<b>S.D.</b>	4,7663	2,035
<b>S.E.</b>	1,0401	0,4338

Tablo 8.8 Fark(IL-6) için Mann-Whitney U Test<sup>a</sup> İstatistikleri

<b>Mann-Whitney U</b>	101,5
<b>Wilcoxon W</b>	354,5
<b>Z</b>	-3,147
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	<b>0,002</b>

a. Grouping Variable: Grup

$p > 0,05$   $H_0$ : Kefir içenlerdeki değişim ile içmeyenlerdeki değişim arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

$p < 0,05$   $H_1$ : Kefir içenlerdeki değişim ile içmeyenlerdeki değişim arasında anlamlı bir farklılık vardır.

**Sonuç:**

$0,002 < 0,01 \Rightarrow H_0$  **RED.**

Tablo 8.9 Fark(IL-10) için Grup İstatistikleri

	<b>Fark (IL-10 Deney)</b>	<b>Fark (IL-10 Kontrol)</b>
<b>N</b>	21	22
<b>Ort.</b>	-2,4094	-0,3162
<b>S.D.</b>	4,8447	1,0156
<b>S.E.</b>	1,0572	0,2165

Tablo 8.10 Fark(IL-10) için Mann-Whitney U Test<sup>a</sup> İstatistikleri

<b>Mann-Whitney U</b>	128,500
<b>Wilcoxon W</b>	359,500
<b>Z</b>	-2,491
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	<b>0,013</b>

a. Grouping Variable: Grup

$p > 0,05$   $H_0$ : Kefir içenlerdeki değişim ile içmeyenlerdeki değişim arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

$p < 0,05$   $H_1$ : Kefir içenlerdeki değişim ile içmeyenlerdeki değişim arasında anlamlı bir farklılık vardır.

**Sonuç:**

$0,013 < 0,05 \Rightarrow H_0$  **RED.**

Tablo 8.11 Fark(IL-17) için Grup İstatistikleri

	<b>Fark (IL-17 Deney)</b>	<b>Fark (IL-17 Kontrol)</b>
<b>N</b>	21	22
<b>Ort.</b>	0,4375	-0,2541
<b>S.D.</b>	0,6463	0,3342
<b>S.E.</b>	0,1410	0,0712

Tablo 8.12 Fark(IL-17) için Mann-Whitney U Test<sup>a</sup> İstatistikleri

<b>Mann-Whitney U</b>	60,00
<b>Wilcoxon W</b>	313,000
<b>Z</b>	-4,169
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>	<b>0,00</b>

a. Grouping Variable: Grup

$p > 0,05$   $H_0$ : Kefir içenlerdeki değişim ile içmeyenlerdeki değişim arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

$p < 0,05$   $H_1$ : Kefir içenlerdeki değişim ile içmeyenlerdeki değişim arasında anlamlı bir farklılık vardır.

**Sonuç:**  $0,00 < 0,01 \Rightarrow H_0$  **RED.**

## 9. KAYNAKLAR

1. Brownlee WJ, Hardy TA, Fazekas F, Miller DH. Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges. *The Lancet*; 389:1336-46, 2017
2. Dendrou CA, Fugger L, Friese MA. Immunopathology of multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol*;15:545-58, 2015
3. Multipl Skleroz Özel Sayısı (Editöryel). *Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi » Cilt 2 » Sayı 3*, 2004
4. Karussis D. The diagnosis of multiple sclerosis and the various related demyelinating syndromes: A critical review. *J Autoimmun*; 48-49:134-42, 2014
5. Hemmer B, Cepok S, Nessler S, Sommer N. Pathogenesis of multiple sclerosis: an update on immunology. *Curr. Opin. Neurol.*, 15: 227–231, 2002
6. Fugger L, Friese MA, Bell JI. From genes to function: the next challenge to understanding multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol* 9:408-17, 2009
7. McFarland HF, Martin R. Multiple sclerosis: a complicated picture of autoimmunity. *Nat Immunol* 8:913-9, 2007
8. Frischer JM, Bramow S, Dal-Bianco A, Lucchinetti CF, Rauschka H, Schmidbauer M. et al. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Brain* 2009;132:1175-89
9. Frohman EM, Racke MK and Raine CS. Multiple Sclerosis -The Plaque and Its Pathogenesis. *N. Engl. J. Med.* 354, 942–955, 2006
10. Goodnow CC. Multistep pathogenesis of autoimmune disease. *Cell* 130:25-35, 2007.
11. Lopez-Diego RS, Weiner HL. Novel therapeutic strategies for multiple sclerosis- a multifaceted adversary. *Nat Rev Drug Discov* 7:909-25, 2008
12. Thompson AJ, Baranzini SE, Geurts J, Hemmer B, Ciccarelli O. Multiple sclerosis. *Lancet.* Apr 21;391(10130):1622-1636. 2018
13. Adelman G, Rane SG, Villa KF. The cost burden of multiple sclerosis in the United States: a systematic review of the literature. *J Med Econ*; 16: 639-47, 2013
14. Noseworthy JH, Lucchinetti CF, Rodriguez M and Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 343: 938–952, 2000.

15. Broux B, Stinissen P & Hellings N. Which immune cells matter? The immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Crit. Rev. Immunol.* 33: 283–306, 2013
16. Venken K, Hellings N, Liblau R, Stinissen P. Disturbed regulatory T cell homeostasis in multiple sclerosis. *Trends Mol Med* 16:58-68. 2010
17. Mauri C, Bosma A. Immune regulatory function of B cells. *Annu Rev Immunol* 30:221-41. 2012
18. Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, Vollmer T, Antel J, Fox RJ, et al. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 14;358(7):676-88. 2008
19. Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, Dalod M, Grau V, Hart DN, et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood* 116:e74-80. 2010
20. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology* 83(3):278-86, 2014
21. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *The Lancet Neurology*; 17:162-73. 2018
22. Abbas A, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology.* p.267-270, 6th Edition Philadelphia:Elsevier. 2007
23. Akdoğan M , Yöntem M. Sitokinler. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi , Cilt 3, Sayı 1, 36-45, <http://www.otjhs.sakarya.edu.tr/download/article-file/445755> , 2018*
24. Göbel K, Ruck T, Meuth SG. Cytokine signaling in multiple sclerosis: Lost in translation. *Mult Scler* 24:432-9. 2018
25. Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M. İnterlökinler. *T Klin J Med Sci*, 18, 1998
26. Akdis M, Burgler S, Cramer R, Eiwegger T, Fujita H, Gomez E, et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon-gamma: receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol* 127(3): 701-721 e701-770, 2011
27. Dembic Z. *The Cytokines of the Immune System: The Role of Cytokines in Disease Related to Immune Response.* p.167-168 1st Edition. Elsevier. 2015
28. Abbas A, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology.* p.287, 6th Edition Philadelphia:Elsevier. 2007

29. Akdis M, Aab A, Altunbulakli C, Azkur K, Costa RA, Cramer R, et al. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor beta, and TNF-alpha: Receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol* 138:984-1010. 2016
30. Stanic B, van de Veen W, Wirz OF, Ruckert B, Morita H, Sollner S, et al. IL-10 overexpressing B cells regulate innate and adaptive immune responses. *J Allergy Clin Immunol*, 2015
31. van de Veen W, Stanic B, Yaman G, Wawrzyniak M, Söllner S, Akdis DG, et al. IgG4 production is confined to human IL-10-producing regulatory B cells that suppress antigen-specific immune responses. *J Allergy Clin Immunol* 131:1204-12. 2013
32. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of immune tolerance to allergens: role of IL-10 and Tregs. *J Clin Invest* 124:4678-80. 2014
33. Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol.* 25:821-52. 2007
34. Chen K and Kolls JK. Interleukin-17A (IL17A). *Gene.* May 30; 614: 8–14. 2017
35. Özen M. Probiyotikler: Anlatılmayan Tarihçe s.10-12 İçinde: Özen M, editör Sağlıklı Kalmak İçin Probiyotikler & Prebiyotikler İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2011
36. Havenaar R, Huis In't Veld MJH. Probiotics: a general view. In: Lactic acid bacteria in health and disease. Vol 1. Amsterdam, Elsevier, 1992
37. Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin ME. Probiotics and immunity. *J Gastroenterol* 44(1):26-46, 2009.
38. Önal D, Beyatlı Y, Aslım B. Probiyotik Bakterilerin Epitel Yüzeyle Yapışması. [www.mikrobiyoloji.org/pdf/702050901.pdf](http://www.mikrobiyoloji.org/pdf/702050901.pdf) ,2005
39. Kadioğlu B. Probiyotik Süt Ürünü Olarak Kefirin Sağlıklı Beslenmedeki Yeri. *The Journal of Academic Social Science* Yıl: 5, Sayı: 60:135-145, 2017
40. Felix ASH. A Review About Probiotic Foods: Kefir, Kimchi and Kombucha. *Journal of Food Process Technology.* 7(11), 635-636. 2016
41. Ahmed Z, Wang Y, Ahmad A. Kefir and health: a contemporary perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* Volume 53, 422-434. 2013



42. Arslan S. A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir. *Journal of Food*. 13(3), 340-345. 2015
43. Rosa DD, Dias MS, Grześkowiak LM. Milk Kefir. *Nutrition Research Reviews*, 30(1), 82-96. 2017
44. De Moreno de LeBlanc A, Matar C, LeBlanc N, Perdigon G. Effects of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* R389 on a murine breast cancer model. *Breast Cancer Res* 7(4): R477-86. 2005
45. De Moreno de Le Blanc A, Chaves S, Carmuega E, Weill R, Antoine J, Perdigon G. Effect of long term continuous consumption of fermented milk containing probiotic bacteria on mucosal immunity and the activity of peritoneal macrophages. *Immunobiology* 213(2): 97-108. 2008
46. Vinderola G, Matar C, Palacios J, Perdigon G. Mucosal immunomodulation by the non-bacterial fraction of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* R389. *Int J Food Microbiol* 115(2): 180-6. 2007
47. Adiloğlu AKK , Gönülateş N, İşler M & Senol A. The effect of kefir consumption on human immune system: a cytokine study. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 47(2), 273–281, 2013
48. Carasi P, Racedo SM, Jacquot C, Romanin DE, Serradell MA, Urdaci MC. Impact of kefir derived *Lactobacillus kefir* on the mucosal immune response and gut microbiota. *J Immunol Res*; ID:361604, 2015
49. Hadisaputro S, Djokomoeljanto RR, Judiono, Soesatyo MH. The effects of oral plain kefir supplementation on proinflammatory cytokine properties of the hyperglycemia Wistar rats induced by streptozotocin. *Acta Med Indones. Apr*;44(2):100-4. 2012
50. Lavasani S, Dzhambazov B, Nouri M, Faik F, Buske S, Molin G, et al. A Novel Probiotic Mixture Exerts a Therapeutic Effect on Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Mediated by IL-10 Producing Regulatory T Cells. *PLoS ONE* 5, 2, e9009, 2010
51. Salehipour Z, Haghmorad D, Sankian M, Rastin M, Nosratabadi R, Soltan Dallal MM, et al. *Bifidobacterium animalis* in combination with human origin of *Lactobacillus plantarum* ameliorate neuroinflammation in experimental model of

- multiple sclerosis by altering CD4+ T cell subset balance. *Biomed Pharmacother.* Nov;95:1535-1548. 2017
52. Jake Remaly, Can Probiotics Help Treat MS? *Neurology Reviews.* April;25(4):1, 38, 2017
53. Nouri M. Gut Manifestations in an Experimental Model of Multiple Sclerosis. Lund University, Department of Clinical Sciences, Doctoral Thesis, p.1-5, Stockholm, 2014
54. Tamtaji OR, Kouchaki E, Salami M, Aghadavod E, Akbari E, Tajabadi-Ebrahimi M, Asemi Z. The Effects of Probiotic Supplementation on Gene Expression Related to Inflammation, Insulin, and Lipids in Patients With Multiple Sclerosis: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *J Am Coll Nutr.* Nov-Dec;36(8):660-665. 2017
55. Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F, Braesco V. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host *Am J Clin Nutr.* Oct;78(4):675-83. 2003
56. Yan F, Polk DB. Probiotics and immune health. *Curr Opin Gastroenterol.* Oct;27(6):496-501. 2011
57. Gratz SW, Mykkanen H, El-Nezami HS. Probiotics and gut health: a special focus on liver diseases. *World J Gastroenterol.* Jan 28;16(4):403-10. 2010
58. Sansonetti PJ. War and peace at mucosal surfaces. *Nat Rev Immunol.* Dec;4(12):953-64. 2004
59. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). *NEUROLOGY (Cleveland)* 33:1444-52, 1983.
60. Kurtzke JF. On the origin of EDSS. *Mult Scler Relat Disord*;4:95-103. 2015
61. Karagöz Y. SPSS 22 Uygulamalı Biyoistatistik s.61-63 İstanbul, Nobel akademik Yayıncılık, 2015
62. Öztuna D, Elhan AH, Tüccar E. Investigation of Four Different Normality Tests in Terms of Type 1 Error Rate and Power under Different Distributions. *Turk J Med Sci(TÜBİTAK)* 36 (3): 171-176. 2006
63. Karagöz Y. SPSS 22 Uygulamalı Biyoistatistik s.406-413 İstanbul, Nobel akademik Yayıncılık, 2015
64. Karagöz Y. SPSS 22 Uygulamalı Biyoistatistik Ek:15 s.743 İstanbul, Nobel akademik Yayıncılık, 2015

65. Karagöz Y. SPSS 22 Uygulamalı Biyoistatistik s.352-362 İstanbul, Nobel akademik Yayıncılık, 2015
66. Karagöz Y. SPSS 22 Uygulamalı Biyoistatistik Ek:1, s.721 İstanbul, Nobel akademik Yayıncılık, 2015
67. Maimone D, Guazzi GC and Annunziata P. IL-6 detection in multiple sclerosis brain. *J Neurol Sci* 146: 59–65. 1997
68. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 441:235-8, 2006
69. McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, Tato CM, Blumenschein W, McClanahan T, Cua DJ. TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. *Nat Immunol* 8: 1390–1397. 2007
70. Giralt M, Ramos R, Quintana A, Ferrer B, Erta M, Castro-Freire M, Comes G, Sanz E, Unzeta M, Pifarré P, García A, Campbell IL, Hidalgo J. Induction of atypical EAE mediated by transgenic production of IL-6 in astrocytes in the absence of systemic IL-6. *Glia* 61: 587–600. 2013
71. Serada S, Fujimoto M, Mihara M, Koike N, Ohsugi Y, Nomura S. IL-6 blockade inhibits the induction of myelin antigen-specific Th17 cells and Th1 cells in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc Natl Acad Sci* 1;105(26):9041-6, 2008
72. Schneider A, Long SA, Cersaletti K, Ni CT, Samuels P, Kita M, Buckner JH. In active relapsing-remitting multiple sclerosis, effector T cell resistance to adaptive T(regs) involves IL-6-mediated signaling. *Sci Transl Med*;5:170ra15, 2013
73. Karp CL, van Boxel-Dezaire AHH, Byrnes AA, Nagelkerken L. Interferon-beta in multiple sclerosis: altering the balance of interleukin-12 and interleukin-10? *Curr. Opin. Neurol.* 14, 361– 368. 2001
74. Matusiewicz D, Kivisakk P, Navikas V, Söderström M, Fredrikson S, Link H. Interleukin-12 and perforin mRNA expression is augmented in blood mononuclear cells in multiple sclerosis. *Scand J Immunol* 1998 47:582-590. 1998
75. van Boxel-Dezaire AHH, Hoff SCJ, van Oosten BW, Verweij CL, Dräger AM, Adèr HJ, et al. Decreased IL-10 and increased IL-12p40 mRNA are associated

- with disease activity and characterize different disease stages in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 45:695-703. 1999
76. Michel L, Degauque N, Garcia A, Salou M, Ngonon AE, Soulillou JP, et al. Loss of IL-10 secretion by regulatory B lymphocytes in multiple sclerosis patients. *Journal of Translational Medicine* 9(Suppl 2):P25, 2011
  77. Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol.* 6(11):1133-41, 2005
  78. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, Weaver CT. Interleukin 17-producing CD4<sup>+</sup> effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 6:1123-32, 2005
  79. Chen K and Kolls JK. Interleukin-17A (IL17A). *Gene.* May 30; 614: 8–14. 2017
  80. Lock C, Hermans G, Pedotti R, Brendolan A, Schadt E, Garren H, Langer-Gould A, Strober S, Cannella B, Allard J, et al. Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med.* 8:500–508. 2002
  81. Kebir H, Kreymborg K, Ifergan I, Dodelet-Devillers A, Cayrol R, Bernard M, Giuliani F, Arbour N, Becher B, Prat A. Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nat Med.* 13:1173–1175. 2007
  82. Waisman A, Hauptmann J, Regen T. The role of IL-17 in CNS diseases. *Acta Neuropathol.* May;129(5):625-37. 2015
  83. Yamamura T, and Miyake S. Diet, Gut Flora, and Multiple Sclerosis: Current Research and Future Perspectives p.115-17. In: *Multiple Sclerosis Immunology: A Foundation for Current and Future Treatments*, editors Yamamura T and Gran B. New York, Springer, 2013.
  84. Kamimura D, Arima Y, Atsumi T. Role of Cytokine-Mediated Crosstalk between T Cells and Nonimmune Cells in the Pathophysiology of Multiple Sclerosis. s.104-105 In: *Multiple Sclerosis: A Mechanistic View* , Elsevier. 2016

## 10. EKLER

### EK-1: HASTA ONAM FORMU

#### ARAŞTIRMA AMAÇLI ÇALIŞMA İÇİN AYDINLATILMIŞ HASTA ONAM FORMU

##### *(Hekimin Açıklaması)*

RELAPSİNG REMİTTİNG MULTİPL SKLEROZ hastalığıyla ilgili yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi “**RELAPSİNG REMİTTİNG MULTİPL SKLEROZ (RRMS) HASTALARINDA KEFİR GIDA TAKVIYESİNİN SERUM SITOKİN SEVİYELERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**”dir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bu araştırmayı yapmak istememizin nedeni; bir probiyotik gıda olan kefir içeceğinin bağışıklık sistemine yardımcı bir etki sağlayarak MULTİPL SKLEROZ tedavisine ek olarak olumlu katkı yapıp yapamayacağını araştırmaktır. Bu sebep ile çalışma grubunda yer alırsanız çalışma süresince beslenmenize ek olarak günlük önerilen miktarda “Kefir” tüketeceksiniz. Kontrol grubunda yer alırsam normal beslenme hayatınıza devam edeceksiniz. Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji bölümü ve Medipol Üniversitesi Sinirbilim Anabilim Dallarının ortak katılımı ile gerçekleştirilecek bu çalışmaya katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Doç. Dr. Erkingül BİRDAY tarafından muayene edileceksiniz ve bulgular kaydedilecektir. Muayene sonucunda doktorunuz uygun görürse bu çalışmaya alınacaksınız. Yine izniniz doğrultusunda bu çalışmayı yapabilmek için sadece çalışmanın başında ve sonunda olmak üzere iki kere kolunuzdan 10mL (1tüp) kadar kan almamız gerekmektedir. Alınan kanda IL-6/10/17 gibi maddelerin miktarı ölçülecektir.

Bu çalışmaya katılmanızı için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Sizinle ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacak, ancak çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir. Kimlik, vb kişisel bilgiler ise kesinlikle paylaşılmayacaktır. Çalışma neticesinde; makul seviyede bir fayda gözlenip gözlenmediği hakkında ayrıntılı olarak bilgilendirileceksiniz.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

**(Katılımcının/Hastanın Beyanı)**

**Sayın Doç. Dr. Erkingül BİRDAY** tarafından Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalları'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. *(Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim)*. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

**Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; Doç. Dr. Erkingül BİRDAY'I ..... telefonundan arayabileceğimi veya Nöroloji Anabilim Dalı adresinde ziyaret edebileceğimi biliyorum.**

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

**Katılımcı**

**Adı, soyadı:**

**Adres:**

**Tel.**

**İmza**

**Görüşme tanığı**

**Adı, soyadı:**

**Adres:**

**Tel.**

**İmza:**

**Katılımcı ile görüşen hekim**

**Adı soyadı, unvanı:**

**Adres:**

**Tel.**

**İmza**

---

\*\* Alınan serum örneklerinin  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edileceğini biliyorum. İleride benzeri çalışmalar için yukarıda anlatılan etik şartlara riayet edilerek bu serum örneğinin tekrar kullanılmasını onaylıyorum.


**Katılımcı**


**Adı, soyadı:**

**İmza**



## 11. ETİK KURUL ONAYI

 **MEDİPOL**  
UNV  
İSTANBUL  
MEDİPOL  
ÜNİVERSİTESİ



T.C.  
**İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ**  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı

E-İmzalıdır

Sayı : 10840098-604.01.01-E.43471  
Konu : Etik Kurulu Kararı

20/11/2017

**Sayın Doç. Dr. Erkingül BİRDAY**

Üniversitemiz Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna yapmış olduğunuz "Relapsing Remitting Multipl Skleroz (Rrms) Hastalarında Kefir Gıda Takviyesinin Serum Sitokin Seviyelerine Etkisinin İncelenmesi" isimli başvurunuz incelenmiş olup etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

**Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK**  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar  
Etik Kurulu Başkanı

Ek:  
-Karar Formu (2 sayfa)

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 20.11.2017 tarihinde e-imzalanmıştır. Evrağımızı <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden 4F3CAA2CX5 kodu ile doğrulayabilirsiniz.

**İstanbul Medipol Üniversitesi**  
Kavacık Mah. Ekinçiler Cad.No:19 Kavacık Kavşağı: 34810  
Beykoz/İSTANBUL

Tel: 444 85 44  
İnternet: [www.medipol.edu.tr](http://www.medipol.edu.tr)  
Ayrıntılı Bilgi İçin : [bilgi@medipol.edu.tr](mailto:bilgi@medipol.edu.tr)



İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ  
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR  
ETİK KURULU KARAR FORMU

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Relapsing Remitting Multipl Skleroz (Rrms) Hastalarında Kefir Gıda Takviyesinin Serum Sitokin Seviyelerine Etkisinin İncelenmesi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVAN/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Erkingül Birday			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Nöroloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ  
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR  
ETİK KURULU KARAR FORMU

Değerlendirilen Belgeler	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ/PLANI	09.11.2017		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
Karar Bilgileri	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	09.11.2017		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	Karar No: 463	Tarih: 10/11/2017				
Yukarıda bilgileri verilen Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve araştırmanın etik ve bilimsel yönden uygun olduğuna "oybirliği" ile karar verilmiştir.						

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK	Eczacılık	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK	Farmakoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Sibel DOĞAN	Psiko-onkoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Devrim TARAKCI	Ergoterapi	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. İknur KESKİN	Histoloji ve Embriyoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Mehmet Hikmet ÜÇİŞİK	Biyoteknoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\* :Toplantıda Bulunma

## 12. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Ahmet	<b>Soyadı</b>	Süzen
<b>Doğum Yeri</b>	İstanbul	<b>Doğum Tarihi</b>	1984
<b>Uyruğu</b>	Türkiye	<b>İkamet</b>	İstanbul
<b>E-mail</b>	asuzen@st.medipol.edu.tr	<b>Tel</b>	5339256415

### Eğitim Düzeyi

	<b>Mezun Olduğu Kurumun Adı</b>	<b>Yıl</b>
<b>Yüksek Lisans</b>	İstanbul Ün. Sağlık Bil. Ens. Tıbbi Genetik	2014
<b>Lisans</b>	İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biy.-Genetik	2009
<b>Lisans</b>	İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Kimya	2008

### İş Deneyimi

<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre</b>
Moleküler Biyolog	İstanbul Üniversitesi, SKS	01/2017- halen
Moleküler Biyolog	İstanbul Üniversitesi, DETAE	03/2012-01/2017
Misafir Araştırmacı	Zurich Uni. Medical Fac., Regenerative Med. Department	05/2015-07/2015
Misafir Araştırmacı	Genom ve Kök Hücre Merkezi	10/2014-05/2015
Laboratuvar Amiri	Akdeniz Bölgesi Gıda Müfrezesi	12/2010-12/2011
Moleküler Biyolog	İstanbul Üniversitesi, Tıbbi Genetik BD.	10/2009-12/2010

<b>Yabancı Dil</b>	<b>Okuduğunu Anlama</b>	<b>Konuşma</b>	<b>Yazma</b>
İngilizce	Çok İyi	İyi	İyi
Almanca	Zayıf	Zayıf	Zayıf
<b>Yabancı Dil Sınavı</b>	<b>Puan</b>		
YDS (İngilizce)	80		

<b>ALES</b>	<b>Sayısal</b>	<b>Eşit Ağırlık</b>	<b>Sözel</b>
	75,09	71,76	66,45