

**FİBROMYALJİ SENDROMLU KADIN OLGULARDA NİTRİK OKSİT SENTAZ GEN  
POLİMORFİZMİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Emine ARICA**

**Ocak – 2005**

**ÖZ**  
**FİBROMYALJİ SENDROMLU KADIN OLGULARDA NİTRİK OKSİT**  
**SENTAZ GEN POLİMORFİZMİ**

ARICA, Emine

Uzmanlık Tezi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Savaş Gürsoy

Ocak 2005, 28 sayfa

Fibromyalji sendromu (FS), yaygın kas iskelet ağrısı ve belirli bölgelerdeki hassas noktalarla ile karakterize, non-inflamatuvar eklem dışı bir romatizmal hastalıktır. Sıklıkla genç yaşlardaki kadınlarda görülür.

Genetik faktörler, virüs enfeksiyonları ve stresin FS etyolojisinde belirgin önemi olduğu düşünülmektedir.

NO, periferik, spinal ve supraspinal seviyede nosiseptif bilgilerin ayarlanmasında ve iletiminde rol alır. NO'nin ağrı üzerinde pozitif feedback mekanizması ile etkili olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada, FS'li olgularda Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) geninin Glu 298 Asp polimorfizminin varlığı ve FS ile ilişkisi araştırıldı. Çalışmaya, 92 FS'li kadın hasta ve 79 sağlıklı kadın kontrol grubu olarak alındı. Genotiplerin dağılımı, hasta ve kontrol grubunda sırası ile GG: (56,50), TG: (16,12) ve TT: (20,17) olduğu saptandı. Genotiplerin dağılımı yönünden gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta grubunda, genotip dağılımı ile klinik parametreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı. Ayrıca hasta ve kontrol grubunda kan NO düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

Sonuç olarak bulgularımız, FS ile eNOS geni Glu 298 Asp polimorfizmi arasında bir ilişkinin varlığını desteklememektedir. FS'in genetik temelini daha iyi anlayabilmek için daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Fibromyalji sendromu, nitrik oksit sentaz, polimorfizm

**ABSTRACT**  
**THE NITRIC OXIDE SYNTHASE GENE POLYMORPHISM IN THE FEMALE**  
**PATIENTS WITH FIBROMYALGIA SYNDROME**

ARICA, Emine

Residency Thesis, Department of Physical Medicine and Rehabilitation

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Savaş Gürsoy

January 2005, 28 pages

Fibromyalgia syndrome (FS) is a non-inflammatory, extraarticular rheumatic disease that is characterized by widespread pain, increased tenderness on palpation. It is mostly seen in young females.

Genetic factors, viral infections, and stress are thought to be of major importance in the etiology of FS.

NO is effective in the modulation of the nociceptive at the peripheral, spinal and supraspinal levels. NO is thought to be effective by the positive feedback mechanism on the pain.

In this study, the existence of the Glu 298 Asp polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene and the relationship with FS were investigated. 92 female patients, who have fibromyalgia, and 72 volunteer controls who are healthy, were included in the study. In the both patients and controls the GG, GT and TT alleles of the Glu 298 Asp genotype were represented in (56;50), (16;12), (20;17) respectively. The results of the patients and controls were not significantly different ( $p>0.05$ ). In the patients group, we could not find out any relationship between alleles of the Glu 298 Asp genotype and clinical parameters. Besides, the blood NO levels of the patients and controls were not significantly different ( $p>0.05$ ).

In conclusion, our results did not show any relationship between the polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and FS. Further, studies are required to understand the genetic basis of FS better.

**Key Words:** Fibromyalgia syndrome, nitric oxide synthase, polymorphism

**KISALTMALAR**

5-HT:	Serotonin (5-hidroksitriptamin)
ACR:	American College of Rheumatology
BDS:	Beck Depresyon Skalası
COMT:	Katekol-O-Metil Transferaz
dNTP:	Deoksinükleotid Trifosfat
eNOS:	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ESH:	Eritrosit Sedimentasyon Hızı
FIQ:	Fibromyalgia Impact Questionnaire
FS:	Fibromyalji Sendromu
iNOS:	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
MSS:	Merkezi Sinir Sistemi
NMDA:	N-Metil-D-Aspartat
nNOS:	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO:	Nitrik Oksit
NOS:	Nitrik Oksit Sentaz
NSP:	Nottingham Sağlık Profili
PCR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PMR:	Polimyalji Romatika
TBE:	Tris Buffer EDTA
VAS:	Visual Analog Skala

**TABLO ve ŞEKİL LİSTESİ****Tablolar**

Tablo 1. Fibromyalji patogenezi	2
Tablo 2. Fibromyaljide görülen semptomlar ve dağılımları	6
Tablo 3. ACR 1990 fibromyalji tanı kriterleri	7
Tablo 4. FS ile ilişkili hastalıklar ve ayırıcı tanı	9
Tablo 5. FS'de tedavi	9
Tablo 6. eNOS geni Glu 298 Asp varyantının tayini için uygulanan PCR koşulları	16
Tablo 7. Hasta ve kontrol grubunun yaş dağılımı	20
Tablo 8. Hasta ve kontrol grubunda eğitim dağılımı	20
Tablo 9. FS ve kontrol örneklerinde genotip dağılımı	21
Tablo 10. Hasta ve kontrol grubunda G ve T allelerinin dağılımı	21
Tablo 11. Hasta ve kontrol grubunda GG+GT ve TT genotiplerine göre dağılımı	21
Tablo12. Hasta ve kontrol grubunda kan NO düzeyi	21

**Şekiller**

Şekil 1. FS'de duyarlı noktaların lokalizasyonu	7
---	---

## İÇİNDEKİLER

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
KISALTMALAR	iii
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	iv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. FİBROMYALJİ SENDROMU	2
2.1.1. Tarihçe	2
2.1.2. Görülme sıklığı	2
2.1.3. Fibromyalji Patogenezi	2
2.1.3.1. Santral Teoriler	3
2.1.3.1.1. Uyku Bozukluğu	3
2.1.3.1.2. Ağrı Modülasyon Bozukluğu	3
2.1.3.1.3. Merkez Sinir Sistemi Biyokimyasında Değişiklikler	3
2.1.3.1.3.1. Serotonin	3
2.1.3.1.3.2. Endorfinler	3
2.1.3.1.3.3. P Maddesi	3
2.1.3.1.3.4. Nöroendokrin Disfonksiyon	3
2.1.3.2. Periferik Teoriler	4
2.1.3.2.1. Sempatik Sistem Aktivitesi	4
2.1.3.2.2. Kas ve Kas İşlevlerinde Bozukluk	4
2.1.3.2.3. İmmünolojik Mekanizmalar	4
2.1.3.3. Genetik Faktörler	4
2.1.4. Klinik Belirti ve Bulgular	5
2.1.4.1. Ağrı	5
2.1.4.2. Tutukluk	5
2.1.4.3. Yorgunluk	5
2.1.4.4. Uyku düzensizliği	5

2.1.4.5. Subjektif yumuşak doku şişliği hissi	5
2.1.4.6. Parestezi	5
2.1.4.7. Diğer belirtiler	5
2.1.5. Fizik Muayene Bulguları	6
2.1.5.1. Duyarlı Noktaları Palpasyonu	6
2.1.5.2. Deri Kıvrım Duyarlılığı Muayenesi	6
2.1.5.3. Dermografizm Muayenesi	6
2.1.6. Laboratuvar Bulguları	6
2.1.7. Tanı	7
2.1.8. Ayırıcı Tanı	8
2.1.9. Tedavi	9
2.1.9.1. Medikal Tedavi	9
2.1.9.1.1. Antidepresanlar	10
2.1.9.1.2. Anksiyolitik Ajanlar	10
2.1.9.1.3. Antiinflamatuvar ve Analjezik İlaçlar	10
2.1.9.1.4. Diğer Farmakolojik Ajanlar	10
2.1.9.1.5. Duyarlı Nokta İnjesiyonu	10
2.1.9.2. Farmakolojik Olmayan Tedaviler	10
2.1.9.2.1. Fiziksel Uyum Eğitimi	10
2.1.9.2.2. Fizik Tedavi	10
2.1.9.2.3. Kognitif Davranışsal Tedavi	10
2.1.9.2.4. Multidisipliner Grup Tedavileri	11
3. NİTRİK OKSİT VE AĞRI	11
3.1. NOS İzomerleri ve eNOS geni Glu 298 Asp Polimorfizmi	11
4. GEREÇ VE YÖNTEM	13
4.1. Yöntem	13
4.1.1. Genetik parametrelerin çalışılması	13
4.1.1.1. DNA İzolasyonu	15
4.1.1.2. PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) Yöntemi ile eNOS Geni Glu298Asp Varyantının Tayini	15
4.1.1.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	17

4.1.2. NO Ölçümü	18
4.1.3. İstatistiksel Analiz	19
5. BULGULAR	20
6. TARTIŞMA	22
7. SONUÇLAR	24
8. KAYNAKLAR	25



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Fibromyalji sendromu (FS), yaygın kas iskelet ağrısı ve belirli bölgelerdeki hassas noktalarla ile karakterize, non-inflamatuvar eklem dışı bir romatizmal hastalıktır. Sıklıkla genç yaşlardaki kadınlarda görülür (1, 2, 3).

Etyolojide genetik faktörler, virüs enfeksiyonları, stres, kronik uyku düzensizlikleri, fiziksel ya da emosyonel travmalar gibi birçok faktör düşünülmektedir. Ayrıca FS'nin etyopatogenezinde nöroendokrin bozuklukların önemli bir yeri olduğu gösterilmiştir. Bu kişilerin hormon seviyelerindeki anormalliklerin ya da çeşitli uyarılara karşı verilen hormonal yanıtlardaki yetersizliklerin, FS kliniğindeki ağrı, yorgunluk, uyku bozukları gibi belirtilerden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (1, 2, 3).

FS'li olgular, çoğu serotonin geni ile ilgili olmak üzere genetik yönden incelenmiştir (4, 5).

Ağrıda Nitrik Oksidin (NO) rolünün tam olarak bilinmemesine karşın, ağrı üzerinde pozitif feedback mekanizma ile etkili olduğu düşünülmektedir (6). NO, periferik, spinal ve supraspinal seviyede nosiseptif bilgilerin ayarlanmasında ve iletiminde yer alır (7-13).

Bu çalışmanın amacı, FS'li olgularda Endotelial Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) geni Glu 298 Asp polimorfizminin FS'nin etyolojisi, hastaların yaşam kalitesi ve klinik durumu arasındaki olası bir ilişkinin varlığının araştırılmasıdır.

Bu çalışmada klinik değerlendirme ve yaşam kalitesi için Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ), Nottingham Sağlık Profili (NSP), olgulardaki depresyon durumu Beck Depresyon Skalası (BDS) kullanılarak değerlendirildi.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. FİBROMYALJİ SENDROMU

FS etyolojisi tam olarak bilinmeyen, yaygın vücut ağrısı, belirli anatomik bölgelerde hassas noktalar, azalmış ağrı eşiği, uyku bozuklukları, yorgunluk ve sıklıkla psikolojik sıkıntı ile karakterize bir yumuşak doku romatizmasıdır (1, 2, 3).

#### 2.1.1. TARİHÇE

18. yüzyıldan beri, değişik şekillerde tanımlanan FS, 1904 senesinde fibrositis terimiyle tanımlanmış, 1980 senesinde Yunus ve arkadaşları fibromyalji terimini kullanarak, tanı kriterlerini ve eşlik eden durumları tanımlamıştır (15). 1990'da American College of Rheumatology (ACR), yaygın ağrı ve hassas noktaların ayrıntılı olarak tanımlandığı FS tanı kriterlerini belirlemiştir (1, 2, 3, 14, 16).

#### 2.1.2. GÖRÜLME SIKLIĞI

FS toplumda yaygın olarak görülür. FS en sık 30-50 yaşları arasında ve %80-90 oranında kadınlarda görülür. Beyaz ırkta daha sık görülür. Hastaların çoğu, orta ve yüksek sosyo-ekonomik düzeye sahiptir (1).

#### 2.1.3. FİBROMYALJİ PATOGENEZİ

FS'nin oluşumunda birçok farklı mekanizmaların rolü olduğu düşünülmektedir (Tablo 1), (17).

Tablo 1. Fibromyalji Patogenezi

#### 1. Santral Teoriler:

1. Uyku bozukluğu
2. Ağrı modülasyon bozukluğu
3. Merkez sinir sistemi (MSS) biyokimyasında değişiklikler
4. Nöroendokrin disfonksiyon

#### 2. Periferik Teoriler

1. Sempatik sistem aktivitesi
2. Kas ve kas işlevlerinde bozukluk
3. İmmünolojik mekanizmalar

#### 3. Genetik Faktörler

### **2.1.3.1. Santral Teoriler**

#### **2.1.3.1.1. Uyku bozukluğu**

FS'de uykunun non-REM 4. fazında bozukluk saptanmıştır ancak, bu bozukluk FS'ye spesifik değildir (1, 17).

#### **2.1.3.1.2. Ağrı Modülasyon Bozukluğu**

Depresyon, cinsel-fiziksel travma, uyuşturucu kullanımı ve beslenme bozukluklarının FS'yi tetiklediği bilinmektedir. Psikolojik stres ve travma FS için predispozisyon yaratmaktadır. FS'de ağrı eşiği düşüktür ve desendan antinosiseptif yolların aktivitesi azalmıştır (1, 17).

#### **2.1.3.1.3. Merkez Sinir Sistemi Biyokimyasında Değişiklikler**

##### **2.1.3.1.3.1. Serotonin**

Serotonin MSS'de non-REM uyku, ağrı ve ruh halini düzenleyen mekanizmalarda görev yapan bir nörotransmitterdir. Organizmanın duyuşal uyarılara yanıtını sağlayan P maddesinin işlevlerini düzenler. Azaldığında non-REM uyku bozularak somatik yakınmalar, depresyon ve ağrı hissinde artma olur. Çeşitli çalışmalar, FS'de serotonin, norepinefrin ve dopamin düzeylerinin azaldığını göstermektedir (17).

##### **2.1.3.1.3.2. Endorfinler**

Endorfinler ağrı duyumunu vücudun birçok bölgesinde modüle ederler (1, 2, 17).

##### **2.1.3.1.3.3. P Maddesi**

P Maddesi primer noziseptif aferentlerin modülatörüdür. MSS'de, substanstia gelatinoza'da ve arka boynuz nöronlarında bulunmaktadır. FS'li olgularda P maddesinin serebrospinal sıvıda normal kontrollere oranla 3 kat fazla bulunması FS'de P maddesinin önemini vurgulamaktadır (17).

##### **2.1.3.1.4. Nöroendokrin Disfonksiyon**

FS'li hastalarda, adrenal yanıt azlığı ve fazla adrenokortikotropik hormon salınımı gibi hipotalamomik-hipofizer-adrenal aksın fonksiyon bozukluğu bildirilmiştir (1, 17).

Son zamanlarda FS ile seks hormonları arasındaki ilişki üzerinde durulmaktadır. Yapılan çalışmalarda östrojen ile P maddesi ve serotonin arasında

bir ilişkinin varlığı ve bu iki nörotransmitterin beyinde östrojen tarafından modüle edildiği gösterilmiştir (1, 17).

### **2.1.3.2. Periferik Teoriler**

#### **2.1.3.2.1. Sempatik Sistem Aktivitesi**

FS hastalarında cilt vazokonstriktör yanıt bozukluğu sempatik sistemde aşırı bir aktivite olduğunu düşündürmüştür. FS'de alfa 2 adrenerjik reseptörlerde artış saptanmıştır (17).

#### **2.1.3.2.2. Kas ve Kas İşlevlerinde Bozukluk**

FS'de bulunan kas disfonksiyon bulguları üç türdür:

- 1- Kas içi yüksek enerjili fosfat miktarında değişiklikler
- 2- Kas oksijenasyonunda azalma
- 3- Dinamik kas gücünde azalma (17).

Yapılan çalışmalara göre kas biyopsilerinde göze çarpan en önemli bulgu, inflamasyon değil, lokal anaksidir. Kasta bir sorun olmakla birlikte bu durum şimdilik histolojik ve elektromyografik çalışmalarla açıklanamamaktadır (1).

#### **2.1.3.2.3. İmmünolojik Mekanizmalar**

FS'de hastaların %55'inde semptomların, grip benzeri ateşli bir hastalık sırasında veya hemen sonrasında başladığı bildirilmiştir.

FS'de deride immünoreaktan birikimi, doğal öldürücü hücre aktivitesinde azalma, periferik T-helper ve/veya supresor hücre sayısında artış, serum interlekin yolağında bozukluk gibi değişik patolojik süreçlerle birlikte hastaların %40-50'sinde düz ve çizgili kas antikoları olduğu gösterilmiştir (1, 2, 17).

#### **2.1.3.3. Genetik Faktörler**

FS'li hastaların aile bireylerinin bir veya daha fazlasında, ağrı semptomları veya romatolojik hastalıklar sık görülmektedir.

Pellegrino ve ark., HLA bağlantılı bir genetik yapının FS'den sorumlu olabileceğini bildirmelerine karşın (18); Yunus ve ark. bu tür bir ilişkinin varlığını gösterememişlerdir (19).

FS ile ilgili birçok genetik çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda mental olarak sağlıklı FS'li hastalarda serotonin transporter gen polimorfizmi (20) ve FS ile serotonin transporter gen regülatör bölge polimorfizmi arasındaki olası ilişki (21) araştırılmış. Bir diğer çalışmada FS'deki psikiyatrik durumla 5-HT2A reseptör

geninin T102C polimorfizmi arasında bir ilişki olduğu (22), ayrıca FS'de katekol-O-metil transferaz (COMT) gen polimorfizminin FS hastalarında önemli olduğu savunulmuştur (4).

#### **2.1.4. KLİNİK BELİRTİ ve BULGULAR**

##### **2.1.4.1. Ağrı**

FS'nin ana septomudur, kronik, yaygın ve simetrik. Ağrı genellikle hastaların bel, boyun ve omuz bölgelerinde yoğunlaşır. Ağrı tedaviye dirençli olup; soğuk, nem, stres, işyeri ortamı, travma, yorgunluk gibi faktörlerle artabilir (1, 2).

##### **2.1.4.2. Tutukluk**

Sabahları daha belirgindir ancak gün boyu sürebilir (1).

##### **2.1.4.3. Yorgunluk**

FS'li hastalarda en sık rastlanan semptomlar arasındadır. Genellikle gün boyu sürer (1).

##### **2.1.4.4. Uyku düzensizliği**

Hastaların %80'inde rastlanan bir durumdur. Uyku kalitesi bozulmuştur (1).

##### **2.1.4. 5.Subjektif yumuşak doku şişliği hissi**

Hastaların çoğunluğunda görülür (1).

##### **2.1.4.6. Parestezi**

Daha çok vücut üst yarısındadır ve segmental dağılım göstermez (1, 2, 3).

##### **2.1.4.7. Diğer belirtiler**

İrritabl kolon sendromu, gerilim tipi baş ağrısı, temporomandibuler disfonksiyon, sık miksiyon, dizüri ile beraber üretral sendrom, dismenore, Raynaud fenomeni ve depresyon görülebilir (1, 3). Fibromyaljide görülen semptomlar ve dağılımları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Fibromyaljide Görülen Semptomlar ve Dağılımları

Semptomlar	%
<b>1. Kas-iskelet</b>	
-Yaygın ağrı	100
-Tutukluk	75
-Her yerde ağrı	65
-Yumuşak dokularda şişlik hissi	50
<b>2. Kas-iskelet dışı</b>	
-Yorgunluk	85
-Sabah yorgunluğu	80
-Uyku bozukluğu	65
- Parestezi	65
<b>3. Eşlik eden belirtiler</b>	
- Anksiyete	60
- Baş ağrısı	50
- Dismenore	50
- İrritabl kolon sendromu	60
- Depresyon	35
- Raynaud fenomeni	10
- Kadın üretral sendromu	10

## 2.1.5. FİZİK MUAYENE BULGULARI

### 2.1.5.1. Duyarlı Noktaların Palpasyonu

FS'li hastalarda sağ ve sol vücut yarılarında simetrik olarak yer alan 18 “duyarlı nokta “ belirlenmiştir. FS'li olgular genelde normal popülasyona göre daha duyarlı oldukları için yaygın duyarlılığın diğer nedenlerinden ayırmak için kontrol noktaları kullanılır (1, 3, 16).

### 2.1.5.2. Deri Kıvrım Duyarlılığı Muayenesi

FS'li hastalarda trapeziusun 1/3 üst bölümünü örten deri parmaklar arasında rulo tarzında yuvarlanıp sıkıştırıldığında ağrı oluşmaktadır (3).

### 2.1.5.3. Dermografizm Muayenesi

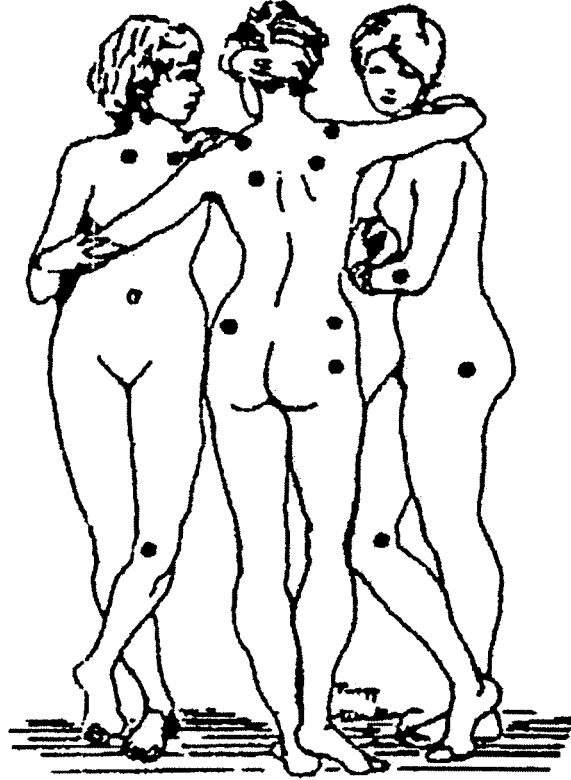
Hassas noktaların ağrı yaratacak düzeyde uyarılmasını izleyen 2 dakika içinde lokal bir hiperemi ortaya çıkmaktadır (3).

## 2.1.6. Laboratuvar Bulguları

Laboratuvar tetkikleri normaldir (3).

### 2.1.7. TANI

FS tanısı için ACR tarafından tanımlanan iki kriter; üç aydan daha fazla devam eden yaygın ağrı ve spesifik 18 anatomik noktadan 11'inde duyarlılık olmasıdır (Şekil 1), (Tablo 3), (1, 2, 16).



Şekil 1. FS'de duyarlı noktaların lokalizasyonu

Tablo 3. ACR 1990 fibromyalji tanı kriterleri

#### 1.Yaygın ağrı öyküsü

Ağrının yaygın kabul edilebilmesi için vücudun sağ ve sol yarısında, belin alt ve üst tarafında ağrı olmalı. Ek olarak, aksiyel iskelet (servikal omur veya göğüs ön duvarı veya torakal omurga veya bel) ağrısı olmalıdır.

2. Parmak ile palpasyonda bilinen 18 duyarlı noktanın 11'inde ağrı olmalı.

Parmak ile palpasyon yaklaşık 4 kg ile yapılmalıdır.

Duyarlı noktanın pozitif kabul edilebilmesi için, olgu palpasyonun ağrılı olduğunu vurgulamalıdır.

Tanıda, yukarıdaki iki kriteri taşıyan olgu FS kabul edilir. Yaygın ağrı en az 3 ay süredir olmalıdır.

İkinci bir klinik hastalığın varlığı FS tanısını geçersiz kılmaz.

### 2.1.8. AYIRICI TANI

Birçok hastalıkta, kronik yaygın ağrı ve yorgunluk vardır. Romatoid artrit, Sjögren sendromu ve sistemik lupus gibi hastalıklar yaygın ağrı ve yorgunluk ile başlayabilir. Yaygın osteoartrit, forestier hastalığı, ankilozan spondilit, polimyozit ve vaskülitte FS'ye benzer yakınmalar olabilir. FS bulgularına neden olabilen diğer hastalıklar nöropati, sarkoidoz, osteomalazi, sistemik enfeksiyonlar, paraneoplazik sendromlar, hipotroidi, hiperparatroidi, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve anemilerdir (1, 2).

İnflamatuvar miyozit ve metabolik myopatiler, kas güçsüzlüğü ve kaslarda yorgunluğa neden olabilir ancak, yaygın ağrı eşlik etmez (1, 2).

Myofasiyal ağrı sendromu, istirahatte ve kas içerisinde palpe edilebilir bantlar şeklinde olan tetik noktalar olan bölgesel ağrı olarak tanımlanır. Kronik yorgunluk sendromu ve FS, yorgunluk, yaygın ağrı ve depresyonun özelliklerini paylaşırlar. Kronik yorgunluk sendromlu hastaların 2/3'ünde FS vardır ve 6 aydan daha fazla devam eden baş ve boğaz ağrısı, hassas lenf nodülleri bulunur (1, 2).

Polimyalji Romatika (PMR), FS'yi taklit edebilir, ancak hassas noktalar polimyalji romatikada bulunmaz ayrıca, yüksek eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve düşük doz steroid tedavisine dramatik yanıt alınması ile FS'den ayrılır (1, 2, 3).

FS'de ağrıya rağmen kas güçsüzlüğünün görülmemesi, kas enzimleri ve kas biyopsi sonuçlarının normal olması ile enflamatuvar myositis ve metabolik myopatilerden ayrılır (1, 2).

Hipotroidi FS'yi taklit edebilir. Ancak, FS'li hastalarının çok azında troid fonksiyon testleri bozuktur (1, 2).

Sarkoidoz, osteomalazi, sistemik enfeksiyonlar, paraneoplazik sendromlar, hiperparatroidi, enflamatuvar barsak hastalığı ve anemiler de FS'ye benzer semptomlar gösterir gösterebilir (2). FS ile ilişkili hastalıklar ve ayırıcı tanı Tablo 4'de gösterilmiştir.



Tablo 4. FS ile ilişkili hastalıklar ve ayırıcı tanı.

Romatoid artrit	Sinovit, pozitif serolojik testler, yüksek ESH
Sistemik lupus eritematozus	Dermatit, serozit, sistemik vaskülit
PMR	Yüksek ESH, ileri yaş, steroide yanıt
Sjögren sendromu	Lenfadenopati, tükürük bezi biyopsisi, serolojik testler
Myozit	Artmış kas enzimleri, kas güçsüzlüğü
Hipotroidi	Anormal troid fonksiyon testleri
Nöropatiler	Nöropatinin klinik ve elektrofizyolojik bulguları

### 2.1.9. TEDAVİ

FS, etyoloji ve patofizyolojisi tam olarak anlaşılammış kompleks ve multifaktöryel bir hastalık olduğu ve bir çok faktör semptomların oluşumunda rol oynadığından belirtiler hastalar arasında farklılık gösterir (3, 23).

Tedavi hasta eğitimi ve tetikleyici faktörlerin eliminasyonu ile başlar, farmakolojik ve farmakolojik olmayan tedavi seçeneklerini içerir (Tablo 5), (23).

Tablo 5. FS'de Tedavi

1. Hekimin pozitif yaklaşımı
2. Kesin tanı, hasta eğitimi ve güven sağlanması
3. Tedavinin bireyselleştirilmesi
4. Tetikleyici faktörlerin belirlenmesi
5. Farmakolojik olmayan tedavi
- Fiziksel aktivite eğitimi
- Fizik tedavi modaliteleri
- EMG biyofeedback
- Akupunktur
- Kognitif -davranışsal tedavi
- Multidisipliner grup tedavileri
6- Farmakolojik tedavi
7. Duyarlı nokta enjeksiyonları

#### 2.1.9. 1. Medikal Tedavi

FS'li birçok hasta ilaç kullanımına direnç gösterir. İyi bir medikal tedavi; aynı sınıftan farklı ilaçları deneme, farklı ilaçları kombine etme ile sağlanabilir. İlaçların

sürekli kullanımı gerekmez. Egzersiz ile hastanın yakınmaları azaldığında ilaçlar gün aşırıya geçip bırakılabilir (1, 2, 23).

#### **2.1.9.1.1. Antidepresanlar**

Bu grupta, trisiklik antidepresanlar, heterosiklik antidepresanlar, monoamin oksidaz inhibitörleri, selektif serotonin geri alım inhibitörleri, S-adenozil-metionin kullanılmaktadır (23).

#### **2.1.9. 1. 2. Anksiyolitik Ajanlar**

Benzodiazepinler, hipnotikler tercih edilebilir (23).

#### **2.1.9. 1. 3. Antiinflamatuvar ve Analjezik İlaçlar**

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, prednizolon ve analjezik amaçla parasetamol ve tramadol tedavide yer alan ilaçlardır (23).

#### **2.1.9. 1. 4. Diğer Farmakolojik Ajanlar**

5-hidroksi triptofan, melatonin, insan interferon alfa, büyüme hormonu, malik asit ve Mg<sup>+2</sup> kombinasyonu kullanılabilir (23).

#### **2.1.9. 1. 5. Duyarlı Nokta İnjesiyonu**

Lidokain, kortikosteroid veya sadece kuru iğne ile uygulanabilir (23).

#### **2.1.9. 2 Farmakolojik Olmayan Tedaviler**

Egzersiz, kognitif-davranışsal tedaviler ilaç tedavisiyle birlikte uygulanmalıdır (23).

#### **2.1.9. 2.1. Fiziksel Uyum Eğitimi**

Egzersiz eğitimi kondüsyonu, genel aktivite düzeyini, mikrotravmaya bağlı rezistansı, kuvvet, endurans ve fleksibilitiyi artırır. Aynı zamanda antidepresan ve relaksasyon etkileri vardır.

Hastalar regüler ve progresif egzersiz için yöreklendirilmelidir. Aerobik egzersiz FS için idealdir. Yürüme, yüzme, bisiklet egzersizleri önerilebilir (1, 23).

#### **2.1.9. 2.2. Fizik Tedavi**

Sıcak, soğuk uygulamaları, elektrik stimülasyonu, TENS, magnetik alan tedavileri, masaj ve manuplasyon gibi tedaviler kullanılmaktadır.

EMG biyofeedback ve akupunktur bazı durumlarda önerilmektedir (1, 23).

#### **2.1.9. 2.3. Kognitif Davranışsal Tedavi**

Bu tedavi yöntemi relaksasyon eğitimi, sağlıklı davranış paternlerinin güçlendirilmesi, ağrı davranışlarının azaltılması, başedebilme yollarının öğretilmesi

ve hastanın kendi becerileri, ağrıyı kontrol etme yetileri konusundaki yanlış inançlarını yenmesini içerir (1, 23).

#### **2.1.9. 2.4. Multidisipliner Grup Tedavileri**

İlaç tedavisi, fizik tedavi ve psikolojik yaklaşımdan oluşan çok yönlü tedavinin hasta iyileşmesinde önemli rolü vardır. Bu tedavi eğitim, adalelerin bilinçli çalıştırılması, eşlik eden depresyon, anksiyete ve irritabl barsak sendromunun tedavisini içermektedir (23).

### **3. NİTRİK OKSİT VE AĞRI**

NO, L-arginin'den, NOS enzimlerince sentezlenen bir serbest radikadır. NO, kan damarları geriminin düzenlenmesi, sinirler arası iletişim ve savunma sistemine kadar pek çok fizyolojik olayda rol almaktadır (24).

NO ile ilgili yapılan son çalışmalar ağrı mekanizmasında oynadığı rol üzerine yoğunlaşmıştır. NO, periferik, spinal ve supraspinal seviyede nosiseptif bilgilerin ayarlanmasında ve iletiminde yer alır (7-12).

FS'li hastaların allodini ve hiperaljezi semptomlarının; primer afferent nosiseptörlerin periferik duyarlılık ve/veya spinal kord düzeyinde gerçekleşen santral duyarlılık mekanizmaları ile açıklanabileceği bildirilmiştir (7).

#### **3.1. NOS İzomerleri ve eNOS geni Glu 298 Asp Polimorfizmi**

Memeli hücrelerinde NOS izomerlerini kodlayan en az üç gen bulunmaktadır (24).

NOS enzimlerinin, sinir ve bazı hücre tiplerindeki nöronal NOS (nNOS), immünolojik uyarılarla indüklenen ve bütün çekirdekli hücrelerde bulunan indüklenebilir NOS (iNOS), endotel hücrelerindeki endotelyal NOS (eNOS) olmak üzere üç izoformu vardır (24).

nNOS ve eNOS yapısal NOS olarak adlandırılırlar ve aktivasyonu az ve aralıklı salıverilmeyle fizyolojik olayların düzenlenmesinde, iNOS ise bol ve sürekli salıverilmesiyle patolojik olaylarda rol almaktadır (24).

Endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) geni 7. kromozomda lokalize olup çeşitli dizi varyasyonları göstermektedir. eNOS genindeki önemli bir polimorfizm 7.ekzondaki guanin (G) nukleotidinin timin (T) ile yer değiştirdiği 894G>T nokta mutasyonudur. eNOS geni üzerindeki bu mutasyon enzim yapısında 298 pozisyonunda yer alan glutamat (Glu) aminoasidinin aspartat (Asp) amino asidi ile

yer değiştirmesine neden olmaktadır. eNOS enzim yapısındaki bu değişiklik plazmada nitrik oksit metabolitleri olan nitrit/nitrat seviyelerini değiştirmektedir (25).

## 4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı polikliniğine başvuran ve 1990 American College of Rheumatoloji (ACR) tanı kriterlerine göre FS tanısı alan 18-70 yaşları arasında, FS dışında başka bir hastalığı bulunmayan 120 kadın hasta ile aynı yaş grubundan 110 sağlıklı kadın gönüllü kontrol grubu olmak üzere, 230 kişi alındı. Hasta ve yakınlarından bilgilendirilmiş yazılı onay ile yerel etik kurul onayı alındı.

Çalışmaya alınan hasta ve kontrollerin aynı hekim tarafından fiziksel muayenesi yapıldı. Biyokimyasal parametrelerin yanı sıra olgularda klinik değerlendirme için FIQ, duyarlı nokta sayısı, yaşam kalitesi için NSP ve depresyon açısından BDS kullanıldı.

Çalışmamızın genetik analizi ve NO ölçümü Farmakoloji Anabilimdalı tarafından yapıldı.

### 4.1. YÖNTEM

#### 4.1.1. GENETİK PARAMETRELERİN ÇALIŞILMASI

**Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler ve solüsyonlar :**

##### **Kimyasal maddeler**

- Proteinaz K (AppliChem, Darmstadt, Almanya)
- Taq-DNA-Polimeraz (Fermentas, Litvanya)
- Deoksinükleotid Trifosfat (dNTP) (Fermentas, Litvanya)
- Dimetil Sulfoxide (DMSO) (Sigma, St. Louis, Amerika Birleşik Devletleri)
- Primer Sense 5'-AAGGCAGGAGACAGTGGATGGA-3' (Iyotek, İstanbul, Türkiye)
- Primer Antisense 5'-CCCAGTCAATCCCTTTGGTGCTCA-3' (Iyotek, İstanbul, Türkiye)
- Agaroz, Ultra Pure 500-5000 bp (Prona, İspanya)
- Orange-G Tozu (Merck, Darmstadt, Almanya)
- Fikol (Sigma, St. Louis, Amerika Birleşik Devletleri)
- Lauryl Sülfat (SDS) (Sigma, St. Louis, Amerika Birleşik Devletleri)

- Etanol %96'lık (Carlo Erba, Rodano, Fransa)
- Tris-EDTA Tamponu (Sigma, Steinheim, Almanya)
- Sodyum Asetat Tamponu (Sigma, Steinheim, Almanya)
- Etidyum Bromid (Sigma, Steinheim, Almanya)

### **Çözeltiler**

Eritrosit Lizis Tamponu	NH <sub>4</sub> Cl (1,55 mol/l)
	KHCO <sub>3</sub> (0,1 mol/l)
	EDTA (0,001 mol/l)
Tris Buffer EDTA (TBE Tamponu)	Tris (0,9 mol/l)
	Borik asit (0,9 mol/l)
	EDTA (0,025 mol/l)
	pH 8,0-8,3
dNTP Çözeltisi	gGTP (0,002 mol/l)
Orange-G Çözeltisi	Fikol (%20) pH 7,5
	Tris (0,01 mol/l)
	Orange-G (1 mg/ml)
SDS Çözeltisi	Sodyumdodesilsülfat (200 g/l) pH 7,2
Sodyum Asetat Tamponu	Sodyum asetat (2 mol/l) pH 5,8
Etidyumbromid Çözeltisi	(10 mg/ml)

### **Cihazlar**

- Termal-Cycler (Eppendorf, Mastercycler gradient)
- Elektroforez tankı (E-C Apparatus Corporation, Newyork, Amerika Birleşik Devletleri)
- Elektroforez güç kaynağı (Bio Rad Power Pac 1000, California, Amerika Birleşik Devletleri)
- İnkübatör (Biometra, Göttingen, Almanya)
- Mikrosantrifüj (Selektra, Barcelona, İspanya)
- Video-Grafik Printer (Sony Koeln, Almanya)
- Görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat, Torcy, Fransa)
- Mikropipet takımı (Eppendorf, Hamburg, Almanya)
- Soğutmalı Santrifüj Selektra, Barcelona, İspanya)
- Hassas terazi (Shimadzu, Kyota, Japonya)

Mikroalga fırın (Arçelik, İstanbul, Türkiye)

Manyetik karıştırıcı (Labinco, Hollanda)

Vorteks (Labinco, Hollanda)

#### 4.1.1.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu yüksek tuz konsantrasyonunda çöktürme yöntemi ile yapıldı (26). EDTA'lı tüplere alınmış olan 1 ml periferik kan örnekleri 10 ml'lik tüplere aktararak üzerine 9 ml soğuk steril distile su ilave edildi. 2-3 dakika hızlıca çalkalandıktan sonra 10 dakika 2000 rpm'de santrifüj edildi. Üst faz yavaşça dökülerek paletin üzeri yeniden soğuk steril distile su ile tamamlandı ve yeniden 10 dakika 2000 rpm'de santrifüj edildi. Üst faz pastör pipeti ile alınarak üzerine

- a. 300 µl eritrosit lizis tamponu
- b. 20 µl proteinaz-K (20 mg/ml)
- c. 20 µl SDS (lauril sulfat)

eklenerek çalkalandıktan sonra bir gece 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası her tüpe 200 µl sodyum asetat eklenip, çalkalanarak oda ısısında 15 dakika bekletilip 15 dakika 3500 rpm'de santrifüj edildi. Son aşamada üst faz temiz bir tüpe alınarak üzerine iki katı kadar +4°C'lik absolut etanol eklendi ve tüpler alt üst edilerek DNA'ların toplanması sağlandı. DNA örnekleri 50 µl tris EDTA tampon içeren tüplere alınarak bir gece oda ısısında bekletilerek çözünmeleri sağlandı, daha sonra -20°C'de muhafaza edildi (26).

#### 4.1.1.2. PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) yöntemi ile eNOS geni Glu298Asp varyantının tayini

eNOS'un bilinen gen yapısı kullanılarak (NCIB-GenBank erişim numaraları: X76307 ve D26607), mutasyonun bulunduğu noktayı içine alan 248 baz-çifti uzunluğundaki gen bölgesi 100 ng DNA kullanılarak polimeraz zincirleme tepkimesi (PCR, polymerase chain reaction) yöntemi ile amplifiye edildi. PCR ortamında 50 µl hacim içerisinde 0.25 mM dNTP (deoksinükleotid trifosfat) karışımı, 1.5 MgCl<sub>2</sub> 1x PCR tamponu, her iki primerden 50 ng ve 2.5 ünite (Ü) Taq polimeraz vardı. Amplifikasyon için kullanılan primer çifti şöyle idi (27): Sens dizi 5'-AAGGCAGGAGACAGTGGATGGA-3' ve antisens dizi 5'-CCCAGTCAATCCCTTTGGTGCTCA-3'. Bu iki primer dizisi, GenBank'taki tüm insan genomunun taranmasında eNOS genetik dizisi dışında başka bir bölgeyi

komplementer olarak tanımadı. Bu maddeler 0,5 ml'lik ince çeperli konik santrifüj tüplerinde karıştırıldıktan sonra thermal cycler'a kondu. DNA örnekleri 94°C'de 5 dakika süren bir ilk-denatürasyon basamağı sonrasında, denatürasyon (94°C, 60 s), bağlanma ("annealing"; 61°C, 60 s) ve uzama (72°C, 60 s) basamaklarınının 40 kez tekrarından oluşan PCR protokolü çoğaltıldı. PCR ürünü (amplikon) 72°C'de 5 dakika uzamaya bırakıldı (Tablo 6).

Tablo 6. eNOS geni Glu 298 Asp varyantının tayini için uygulanan PCR koşulları

	Denatürasyon		Annealing		Uzama	
	Sıcaklık (°C)	Zaman (dk)	Sıcaklık (°C)	Zaman (dk)	Sıcaklık (°C)	Zaman (dk)
1x	94	5				
40x	94	1	61	1	72	1
1x					72	5

Thermal cycler'den çıkarılan PCR ürünü 10 µl Orange G ile karıştırıldı ve %3'lük ultra saf agaroz jeldeki kuyucuklara pipetle yerleştirildi. Sonra içinde 1/100 etidyum bromür/TBE tamponu olan elektroforez tankında 100 V'ta 30 dk yürütüldü. U.V. altında görüntülenerek Video-Grafik'ten amplifikasyonlar görüntülenerek kopyaları alındı.

Daha sonra elde edilen PCR ürünlerine öncelikle 20 µl hacim içerisinde BanII (5 Ü) endonükleaz enzimi eklenerek 37°C'de 12 saat inkübe edildi. Kesim ürünleri %3'lük agaroz jelde elektroforez işlemine maruz bırakıldı ve sonuçta 163 ve 85 baz çiftlik iki ayrı ürün gözlemlendi. Mutasyonu taşımayan allel bulunması durumunda BanII, PCR ürünü 163 ve 85 baz çiftlik iki küçük parçaya ayırdı. Mutant bireylerde ise eNOS gen yapısında 894'üncü pozisyonda G bazının yerini T almış olduğundan BanII enziminin kesme noktası kayboldu ve PCR ürünü ikiye kesilemedi.

**%3'lük jel hazırlanması:** 150 ml TBE tamponuna 4,5 g ultra saf agaroz eklendi ve mikrodalga fırında 2 dk kaynatıldı. Manyetik karıştırıcıda ılıyınca kadar karıştırıldıktan sonra 15 µl etidyum bromür eklendi. Daha sonra kuyucuk kalıplarının yerleştirildiği elektroforez tablasına döküldü. İyice soğuduktan sonra kalıplar çıkarıldı (27, 28).



#### 4.1.1.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Kary MULLIS'in buluşu olan ve kendisine NOBEL ödülü kazandıran PCR, nükleik asitlerin in vitro çoğaltılmasını sağlayan yöntemdir. Hücre içinde gerçekleşen DNA replikasyonu PCR ile tüp içinde taklit edilmektedir.

PCR yöntemi ile DNA'nın çoğaltılması için karışımda aşağıdaki maddeler yer almalıdır:

- a. Çoğaltılacak olan kalıp DNA
- b. Kalıp DNA'dan çoğaltılması planlanan bölgenin iki ucunda DNA dizisini özgül olarak tanıyıp bağlayacak olan DNA primerleri.
- c. Primerlere bağlanıp 3'ucundan nükleotidleri ekleyerek sentez yapacak olan DNA polimeraz.
- d. Sentezde kullanılacak olan deoksiribonükleotid trifosfatlar (dNTP).
- e. Polimerazın çalışması için gerekli tampon görevi yapacak maddeler ve tuzlar (genellikle tris ve KCl).
- f. Enzimlerin çalışması için gerekli kofaktör olan  $Mg^{++}$  iyonları.

PCR, üç değişik sıcaklıkta çalışan basamakların bir döngü halinde tekrarlanması ile gerçekleştirilir.

1. Denatürasyon
2. Annealing (birleşme)
3. Primerlerin uzaması

Denatürasyon: 94°C'ye ısıtılan DNA'nın iki zinciri birbirinden ayrılır.

Annealing: Sıcaklığın düşürülmesi ile, primerler çoğaltılacak bölgenin uçlarında yer alan kendilerine özgül dizileri tanıyarak hidrojen bağları kurarlar. Primerlerin özgül olarak bağlanması için kullanılan sıcaklık 50°C-70°C arasında değişmektedir.

Primerlerin uzaması: Karışım DNA Polimeraz'ın çalıştığı optimum sıcaklığa getirildiğinde primerlere bağlanmış olan enzim 3' ucuna kalıp DNA'ya uygun nükleotidleri ekleyerek DNA sentezini gerçekleştirirler.

Bu üç basamak bir döngüyü oluşturur ve her tekrarlanışta iki primer arasında kalan özgül DNA parçasının her iki zincirinin birer kopyası çıkarılmış olur.

İnce çeperli tüplerde kullanılan tipik bir PCR programı şu şekildedir:

94°C'de 2 dk	denatürasyon
94°C'de 30-45 sn	denatürasyon
50-70°C'de 30-45 sn	primer birleşmesi 15-45 döngü
72°C'de 45-60 sn	polimerizasyon

72°C'de 7 dk yarım kalan zincirlerin tamamlanması özgül DNA parçasının her iki zincirinin birer kopyası çıkarılmış olur.

PCR ile elde edilen ürünler agaroz jel elektroforezi ile ayrıştırılır ve DNA zincirleri etidyum bromür ile boyanarak U.V. ışık kaynağında florans vererek görünür hale getirilir (29, 30).

#### 4.1.2. NO ÖLÇÜMÜ

Nitrat ve nitrit NO'nun başlıca oksidasyon ürünleridir ve dolayısıyla plazmada ve doku homojenatlarında nitrat/nitrit seviyesi, NO oluşumunun göstergesi olarak kullanılabilir.

Perferik kan örnekleri EDTA içeren tüplerde toplandı. Sonra örnekler, 15 dk boyunca 4°C'de 5.000 devir/dk'da santrifüj edildi ve analiz edilene kadar -20°C'de muhafaza edildi. Örnekler 1:2 v/v karışımında saf etanol ile proteinlerden arındırıldı. 14.000 devirde 5 dk'lık santrifüjü takiben 30 dk'da 0°C'de inkübe edildi. Çökelti atılarak supernatant, nitrik oksit seviyelerini ölçmek için kullanıldı. Nitrik oksit seviyelerini ölçmek için NO/ozon kemiluminesans tekniğini uyguladık (Model 280i NOA, Sievers Instruments, Boulder, CO, USA). Özetle, indirgeyici solüsyonu vanadyum (III) kloridin M HCl'de çözünmesi ile hazırlandı ve kullanmadan önce filtre edildi. Nitrat, nitrit ve S-nitroso bileşiklerini nitrik okside dönüştüren indirgeyici ajan ile reaksiyona girmesi için örnekler ve standartlar sisteme enjekte edildi. Devamlı saf nitrojen akımı, reaksiyon oluşan NO'nun sisteme iletilmesinde kullanıldı. Herbir örnek, örneğin kaynağını bilmeyen birisi tarafından iki kez analiz edildi. Standart bir eğri, sodyum nitratın bir seri dilüsyonu (0.1-100 µM) ile oluşturuldu. Örneklerdeki nitrik oksit metabolitlerinin konsantrasyonları, standart eğri ile karşılaştırılmasıyla belirlendi ve µM olarak ifade edildi. Veri toplama ve analizi NO Analysis™ programı (versiyon 3.21, Sievers, Boulder, CO, USA) kullanılarak gerçekleştirildi.

#### **4.1.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

İstatistik yöntemi olarak SPSS (11.0) paket programı kullanılmış olup, hasta ve kontroller arasındaki NOS genotip ve alellerin dağılımı ve eğitim düzeyi karşılaştırmaları ki-kare analizi ile yapılmıştır. Hasta ve kontrollerin kan NO düzeylerinin karşılaştırmalarında Student-t testi, çok sayıda parametrenin (FIQ, NSP, BDS, hasas nokta sayısı ve genotiplerin) karşılaştırmalarında ise ANOVA analizi kullanılmıştır. Anlamlılık limiti 0,05 olarak kabul edilmiştir.

## 5. BULGULAR

Çalışmaya alınan 120 kadın hasta ile aynı yaş grubundan 110 sağlıklı kadın gönüllünün bir kısmı çeşitli nedenlerle çalışma dışı bırakıldı ve 92 kadın hasta ve 79 sağlıklı kadın gönüllü olmak üzere, 171 olgu çalışmaya alındı.

Hasta ve kontrol grubunun ortalama yaşları Tablo 7'de sunulmuştur. Hasta ve kontrol grubu arasında yaş dağılımı bakımından anlamlı farklılık yoktu ( $p>0.05$ ).

Tablo 7. Hasta ve kontrol grubunun yaş dağılımı

	Yaş ortalaması
Hasta	41.91±11.1
Kontrol	42.47±12.1

Hasta ve kontrollerin eğitim düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 8), ( $P> 0.05$ ).

Tablo 8. Hasta ve kontrol grubunda eğitim dağılımı

	Hasta	Kontrol	Toplam
İlkokul	46	37	83
Ortaokul	10	6	16
Lise	15	16	31
Üniversite	10	12	22
Eğitimsiz	11	8	19
Toplam	92	79	171

NOS geni ile ilgili saptanan genotipler hasta ve kontrollerde sırası ile; GG: (56, 50), TG: (16,12) ve TT: (20,17) olarak bulundu. Hasta ve kontrol gruplarında GG, TG ve TT genotiplerin dağılımları arasında anlamlı bir fark saptanmadı ( $\chi^2=0.920$ ,  $P> 0.05$ ).

Tablo 9. FS ve Kontrol Gruplarında Genotip Dağılımı

	GG	TG	TT	Toplam
<b>FS</b>	56	16	20	92
<b>Kontrol</b>	50	12	17	79
<b>Toplam</b>	106	28	37	171

Hasta ve kontrol grubunda G, T allellerin dağılımları arasında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 10).

Tablo 10. Hasta ve kontrol grubunda G ve T allellerinin dağılımı

	G	T	Toplam
<b>Hasta</b>	128	56	184
<b>Kontrol</b>	112	46	158

“G” allelini taşımanın FS açısından bir risk olup olmadığını saptamak için hasta ve kontrol gruplarını (GG ve GT) genotipini birlikte karşılaştırıldı. Gruplar arasında bu dağılımlar arasında anlamlı bir fark saptanamadı (Tablo 11).

Tablo 11. Hasta ve kontrol grubunda GG+GT ve TT genotiplerine göre dağılımı

	GG+GT	TT	Toplam
<b>Hasta</b>	72	20	92
<b>Kontrol</b>	62	17	79
<b>Toplam</b>	134	37	171

( $\chi^2=0.561$ ,  $P>0.05$ )

Hasta grubunda NO düzeyi ile genotip dağılımları arasında anlamlı bir fark saptanmadı ( $P>0.05$ ).

Tablo 12. Hasta ve kontrol grubunda kan NO düzeyi

	NO seviyesi ( $\mu\text{M}$ )
<b>Hasta</b>	576.2 $\pm$ 307.8
<b>Kontrol</b>	626.5 $\pm$ 418.5

Hastalarda genotip dağılımı ile FIQ, NSP, BDS, ve hassas nokta sayısı gibi bazı parametrelerin karşılaştırılmasında anlamlı bir sonuç bulunmadı ( $P>0.05$ ).

## 6. TARTIŞMA

FS etyolojisi tam olarak bilinmeyen, yaygın vücut ağrısı ve vücudun belirli noktalarında duyarlı noktalarla karakterize bir yumuşak doku romatizmasıdır.

NO, çeşitli biyolojik süreçlerde, hücre içi ve hücreler arası iletişimde rol alan, yarı ömrü birkaç saniye olan bir moleküldür. NO'nun nosiseptif süreçteki rolü tam bilinmemekte, ancak ağrı üzerinde pozitif feedback mekanizması ile etkili olduğu düşünülmektedir. NO blokajının, nöropatik hayvan modellerinde ağrıyı azaltığı gösterilmiştir (6, 24).

FS'li olgularda serotonin gen polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmada hastalarda "S/S" genotipinin, sağlıklı kontrollere göre daha yüksek oranda olduğu gösterilmiştir. Ayrıca "S/S" genotipi olan olgularda depresyonun daha sık görüldüğü de gösterilmiştir. FS'li hastalarda serotonin metabolizmasının değişmiş olabileceği savunulmaktadır (21).

Katekolamin içeren ilaçların metabolizması ile ilgili katekol-O-metil transferaz (COMT) gen polimorfizminin, bu hastalığın patogenez ve tedavisinde önemli rolü olduğu belirtilmiştir (4).

FS'li olan bireylerde, 5-HT<sub>2A</sub> reseptör geninin T102C polimorfizminin araştırıldığı çalışmada; olgularda "T/T" oranında anlamlı olarak azalma, "T/C" ve "C/C" genotiplerinin artmış bir dağılım gösterdiği saptanmıştır. "T/T" genotipi olan olguların ağrı eşiğinin diğer gruplara göre daha düşük olduğu; bu genotipin FS'de gözlenen psikiyatrik semptomlarla ilişkili olduğu belirtilmiştir (22).

FS'li hastalarda ağrı yoğunluğunun artmış NO senteziyle uyumlu olduğu ve bu sonucun, hastaların serebrospinal sıvısındaki artmış P maddesinden, artmış eksitator aminoasit salınımı ve metabolizmasından ve/veya glisininin NMDA (N-Metil D-Aspartat) reseptörleri üzerindeki pozitif modülatör etkisinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (7).

Benzer bir düşünce ile hasta ve kontrol grupları arasında kan NO seviyesi karşılaştırıldı. NO düzeyi dağılımı ile hasta ve kontrol grupları arasında bir farklılık saptanamadı ( $p>0.05$ ). Bu durum NO'nun, FS'li hastalarda gözlenen ağrı algılanmasını etkileyen biyolojik süreçlerde bir ara molekül olması ve/veya

yarılanma ömrünün çok kısa olması nedeni ile saptanabilmesinin zor olması ile açıklanabilir.

Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında genotip dağılımı yönünden anlamlı bir fark saptanamadı. Bu durum çalışmaya alınan olgu ve kontrollerin sayısının yetersizliği ve/veya ilgili gen polimorfizminin FS'de doğrudan etkili olmaması ile açıklanabilir. Ayrıca, ağrının önemli bir semptomu olduğu bir biyolojik süreci etkileyen, birden fazla parametrenin varlığı da göz önüne alınması gerektiği düşünüldü.

Olgularda genotipe göre FIQ, NSP, BDS ve duyarlı nokta sayısı gibi bazı klinik ve yaşam kalitesiyle ilişkili parametrelerin karşılaştırılmasında anlamlı bir sonuç saptayamadık. Bu durum çalışmaya alınan olgu grubunun, aynı bölgeden olması, ortak bir kültürel yapı ve benzer alışkanlıkları nedeni ile ağrı algılanması, yaşam kalitesi ve depresyon eşiği gibi klinik parametrelerde bir farklılığın görülmeyebileceği; ayrıca olgu ve kontrol sayısının azlığının da göz önünde bulundurulması gerektiği düşünüldü.

Sonuç olarak biz FS'da genetik zeminde ilk sırada ağrı algılanması olmak üzere her parametrenin detaylı olarak araştırılması gerektiğini düşündük. Çalışmamız, ağrı algılanmasının çeşitli düzeylerinde etkisi olan NO sentaz geni ile ağrının en önemli semptomu olduğu FS'nin ilişkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Sonuçlarımız anılan parametreler arasında herhangi bir ilişkinin varlığını desteklememektedir. Ancak bu konuda ileride yapılacak olan çalışmalara zemin hazırlayacağına inanıyoruz.

## 7. SONUÇLAR

1. Türkiye'de ilk kez FS'li kadın hastalarda eNOS geni Glu 298 Asp polimorfizmi dağılımı araştırıldı.
2. Hasta ve kontrol grupları arasında ne genotip ne de allel dağılımı farkı mevcut değildir.
3. FS'de ağrı ve eNOS geni Glu 298 Asp polimorfizmi arasındaki olası ilişki gelecekte araştırmaya değer alan olacaktır.
4. İlerleyen yıllarda daha fazla sayıda hasta içeren gruplarla yapılacak birbirinden bağımsız örneklemlerde çalışmalara ihtiyaç vardır.



## 8. KAYNAKLAR

1. Cantürk F. Fibromyalji ve Diğer Eklem Dışı Romatizmal Hastalıklar. In: Beyazova M, Gökçe- Kutsal Y , (eds). Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon. Cilt 2. Ankara, Güneş Kitabevi, 2000:1654-1677.
2. Akkuş S. Fibromyalji. In: Göksoy T, (ed). Romatizmal Hastalıkların Tanı ve Tedavisi. İstanbul, Yüce yayım, 2002: 777-790.
3. Öncel A. Fibromyalji Sendromunda Klinik Bulgular ve Tanı Kriterleri. In: Gökçe-Kutsal Y, (ed). Modern Tıp Seminerleri. Ankara, Güneş Kitabevi, 2001;16: 19-24.
4. Gürsoy S, Erdal E, Herken H, Madenci E, Alaşehirli B, Erdal N. Significance of catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in fibromyalgia syndrome. Rheumatol Int 2003; 23: 104-107.
5. Bondy B, Spaeth M, Offenbaecher M, Glatzeder K, Stratz T, Schwarz M, et al. The T102C Polymorphism of the 5-HT2A-Receptor Gene in Fibromyalgia. Neurobiol Dis 1999; 6: 433-439.
6. Erdine S. Ağrı Mekanizmaları. In: Erdine S, (ed). Ağrı, Nobel Tıp Kitabevleri, 2000; 20-29.
7. Larson AA, Giovengo SL, Russell IJ, Michalek JE. Changes in the concentrations of amino acids in the cerebrospinal fluid that correlate with pain in patients with fibromyalgia: implications for nitric oxide pathways. Pain 2000; 87: 201-211.

8. Doursout MF, Liang Y, Chelly JE. NOS inhibitors exhibit antinociceptive properties in the rat formalin test. *Reg Anesth Pain Med* 2003; 50:9: 909-916.
9. Kawabata A, Kawao N, Itoh H, Shimada C, Takebe K, Kuroda R, et al. Role of N-methyl-D-aspartate receptors and the nitric oxide pathway in nociception/hyperalgesia elicited by protease-activated receptor-2 activation in mice and rats. *Neurosci Lett* 2002; 329: 349-353.
10. Watanabe C, Okuda K, Sakurada C, Ando R, Sakurada T, Sakurada S. Evidence that nitric-oxide-glutamate cascade modulates spinal antinociceptive effect of morphine: a behavioural and microdialysis study in rats. *Brain Res* 2003; 90: 77-86.
11. Özek M, Üresin Y, Güngör M. Comparison of the effects of specific and nonspecific inhibition of nitric oxide syntase on morphine analgesia, tolerance and dependence in mice. *Lif Sci* 2003; 72: 1943-1951.
12. Önal A, Delen Y, Ülker S, Soykan N. Agmatine attenuates neuropathic pain in rats: Possible mediation of nitric oxide and noradrenergic activity in the brainstem and cerebellum. *Lif Sci* 2003; 73: 413-428.
13. Tao F, Tao YX, Mao P, Zhao C, Li D, Liav WJ, et al. Intact carrageenan-induced thermal hyperalgesia in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Neuroscience* 2003; 120: 847-854.
14. Tüzün F. Yumuşak Doku Romatizmaları. In: Tüzün F, Eryavuz M, Akarırmak Ü, (eds). *Hareket Sistemi Hastalıkları*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1997: 159-173.

15. Yunus MB, Massi AT, Calabro JJ. Primary fibromyalgia (fibrositis): Clinical study of 50 patients with matched normal controls. *Semin Arthritis Rheum* 1981; 11: 151-171.
16. Bradley LA, Alarcon GS. Fibromyalgia. In: Koopman WJ, ed. *Arthritis and Allied Conditions (14<sup>th</sup> Ed)*. Volume 2. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2000: 1811-1835.
17. Özaras N, Kayhan Ö. Fibromyalji Patogenezi. In: Gökçe-Kutsal Y, ed. *Modern Tıp Seminerleri*. Ankara, Güneş Kitabevi, 2001;16: 12-18.
18. Pellegrino MJ, Waylonis GW, Sommer A. Familial occurrence of primary fibromyalgia. *Arch Phys Med Rehabil* 1989; 70: 61-63.
19. Yunus MB, Rawlings KK, Khan MA, Green JR. Genetic studies of multicase families with fibromyalgia syndrome. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 15-21.
20. Gursoy S. Absence of association of the serotonin transporter gene polymorphism with the mentally healthy subset of fibromyalgia. *Clin Rheumatol* 2002; 21: 194-197.
21. Offenbaecher M, Bondy B, Longe S, Glatzeder K, Kruker M, Scho P, et al. Possible association of fibromyalgia with a polymorphism in serotonin transporter gene regulatory region. *Arthritis Rheum* 1999; 42(11): 2482-8.
22. Gursoy S, Erdal E, Herken H, Madenci E, Alaşehirli B. Association of T102C polymorphism of the 5-HT2A receptor gene with psychiatric status in fibromyalgia syndrome. *Rheumatol Int* 2001; 21: 58-61.
23. Çeliker R. Fibromyalji Sendromu Tanı ve Tedavisinde Yenilikler. In:19. *Ulusal Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kongre Kitabı*. Antalya, 2003; 132-135.

24. Türker KR, Kayaalp O. Eikosanoidler (Araşidonik Asit Metabolitleri) ve Diğer Otakoidler. In: Tıbbi Farmakoloji. Cilt 2. Ankara, Hacettepe-Taş, 2000: 1513-1537.
25. Yoshimura T, Yoshimura M, Tabata A, Shimasaki Y, Nakayama M, Miyamoto Y, et al. Association of the missense glu298asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with severe preeclampsia. J Soc Gynecol Investig 2000; 7: 238-41.
26. Miller SA, Dykes DD, Pelesky HF. A Simple salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cells. Nuc Acid Res 1998; 16: 1215.
27. Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N, Yoshimura M, Shimasaki Y, Nakayama M, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. Hypertension. 1998; 32: 3-8.
28. Yoshimura M, Yasue H, Nakayama M, Shimasaki Y, Sumida H, Sugiyama S, et al. A missense Glu298Asp variant in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm in the Japanese. Hum Genet 1998; 103: 65-9.
29. Innis MA, Gelfand DH. A Guide to Methods and Applications (Chapter 1). In: PCR Protocols. San Diego, Academic Press, 1990; 3-12.
30. Innis MA, Gelfand DH: A Guide to Methods and Applications (Chapter 2) In: PCR Protocols. San Diego, Academic Press 1990; 13-20.