

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**MULTİPL SKLEROZ OLUŞTURULAN FARE  
MODELİNDE DEMİYELİNİZASYON VE  
REMİYELİNİZASYONUN GÖSTERİLMESİ**

Serra ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2017 - ANTALYA

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**MULTİPL SKLEROZ OLUŞTURULAN FARE  
MODELİNDE DEMİYELİNİZASYON VE  
REMİYELİNİZASYONUN GÖSTERİLMESİ**

Serra ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Muzaffer SİNDEL**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2016-1552 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2017 - ANTALYA

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;**

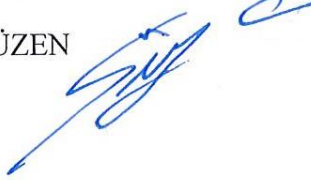
Bu çalışma jürimiz tarafından Anatomi Anabilim Dalı Anatomi Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 05/12/2017

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Muzaffer SİNDEL  
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. L. Bikem SÜZEN  
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Gülgün ŞENGÜL  
Ege Üniversitesi



Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .. / .. / .. tarih ve .. / .. sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN  
Enstitü Müdürü

## ETİK 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 içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara, kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Serra ÖZTÜRK

İmza



Tez Danışmanı

Prof. Dr. Muzaffer SİNDEL

İmza



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince derin bilgi ve deneyimleri ile beni yetiştiren ve her zaman bana destek olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Muzaffer SİNDEL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Danıştığım her an yönlendirici bilgilerini benimle paylaşan sayın hocam Prof. Dr. Narin DERİN'e, çalışmam sırasında engin bilgilerini paylaşan ve tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Gamze TANRIÖVER'e, araştırmalarım sırasında klinik bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve kaynak sağlayan sayın hocam Doç. Dr. Ferah KIZILAY'a, bilgi ve tecrübelerinden her zaman yararlandığım sayın hocam Prof. Dr. Levent SARIKCIOĞLU'na sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Eğitimim süresince yetişmemde emeği olan anabilim dalımızın değerli hocalarına içtenlikle teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam sürecince hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen ve bilgileriyle katkı sağlayan değerli arkadaşım Dr. Güneş AYTAÇ'a, laboratuvar aşamalarında yardımcı olan arkadaşlarım Betül HATİPOĞLU'na ve Asiye Kübra GÖKSU'ya, gavaj sürecince beni yalnız bırakmayan ve ders boşluklarında dahi yardım için gelen öğrencilerimiz Mehmet Berke GÖZTEPE'ye ve Kemal Batuhan TANRIVERDİ'ye, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'ndeki personellere ve hayvan kesimlerimize titizlikle yardım eden İbrahim ÇALIŞKAN'a, teknik desteğiyle yanımda olan biricik kuzenim Sevinç Ege BİLGİN'e teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamın istatistiksel olarak yorumlanmasında bilgi ve tecrübesiyle yardımcı olan Uzm.Dr. Deniz Özel ERKAN'a teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam boyunca deneylerimi yapmam için gerekli olan laboratuvarlarımı ve ekipmanlarımı kullanmamı sağlayan Biyofizik Anabilim Dalına ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalına teşekkürlerimi sunarım.

Beni bu günlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiştirerek getiren, her zaman sonsuz destek ve güç veren biricik anneme ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Amaç:** Multipl skleroz (MS) Merkezi Sinir Sistemi'ni (MSS) etkileyen kronik, otoimmün, inflamatuvar demiyelinizan bir hastalıktır. MS patofizyolojisinde genetik ve çevresel risk faktörlerinin önemli rol oynadığı düşünülse de MS'e spesifik bir patogenez yeterince tanımlanamamıştır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı sistemik kuprizonun demiyelinizasyona etkilerini incelemek ve MS patogenezi ile ilgili daha çok bilgiye ulaşılmasını sağlamaktır.

**Yöntem:** 40 tane erkek C57BL/6 türü fare randomize olarak 4 gruba ayrıldı: (1) Demiyelinizasyon kontrol grubu 6 hafta boyunca normal yem ile beslenen grup; (2) Demiyelinizasyon grubu 6 hafta boyunca gavaj ile %0,2 kuprizon verilen grup; (3) Remiyelinizasyon grubu 6 hafta boyunca gavaj ile %0,2 kuprizon verilen ve sonrasında 6 hafta boyunca normal yem ile beslenen grup; (4) Remiyelinizasyon kontrol grubu 12 hafta boyunca normal yem ile beslenen grup. Demiyelinizasyon ve remiyelinizasyon gruplarına yürüme, açık alan ve tail-flick testleri uygulandı. Demiyelinizasyonu göstermek için hippocampus ve corpus callosum'da immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak myelin basic protein (MBP) ve glial fibrillary acidic protein (GFAP) yoğunlukları belirlendi.

**Bulgular:** Demiyelinizasyon grubunun hippocampus'unda ve corpus callosum'unda kontrol ve remiyelinizasyon gruplarına göre, GFAP yoğunluğunun arttığını ve MBP yoğunluğunun azaldığını gözlemledik. Demiyelinizasyon grubunun yürüme testi sonucunda overlap ve sağ arka topuk ile sol 3. parmak arası uzaklık (TOF) mesafesinin arttığı, açık alan test sonucunda alınan yol miktarı ve hızın azaldığı saptandı. Ayrıca kuyruk çekme testi sonucunda demiyelinizasyon grubunun bekleme süresinin remiyelinizasyon grubuna göre daha uzun olduğu belirlendi.

**Sonuç:** Sonuçlarımıza göre kuprizon, farede MS modeli oluşturmak için uygun bir ajandır. Mevcut çalışmanın devamında santral ve periferik oluşumların incelenmesinin yeni projelere kaynaklık edebileceği kanaatindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Multipl skleroz, kuprizon, gavaj, demiyelinizasyon, hayvan modeli.

## ABSTRACT

**Objective:** Multiple sclerosis (MS) is a chronic, autoimmune, inflammatory, demyelinating disease that affects the central nervous system (CNS). Genetics and environmental risk factors are thought to play an important role in the MS pathophysiology, specific pathogenesis to MS is not well described. Aim of this study was to investigate the systemic effects of cuprizone on demyelination and to get more information on MS pathogenesis. We have allowed reaching a good knowledge of the pathogenesis of MS.

**Method:** 40 male C57BL/6 mice were randomly divided into four groups. (1) Demyelination control group which was fed 6 weeks with normal chow; (2) Demyelination group was administered 0.2% cuprizone for 6 weeks via gavage daily; (3) Remyelination group was administered 0.2% cuprizone for 6 weeks via gavage and then fed with normal chow for 6 weeks; (4) Remyelination control group which was fed with normal chow for 12 weeks. Demyelination and remyelination groups were evaluated to walking, open field and tail-flick tests and determined the myelin basic protein (MBP) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) expressions by using immunohistochemical techniques on hippocampus and corpus callosum.

**Results:** We observed increased GFAP and also decreased MBP expressions in hippocampus and corpus callosum of demyelination group compared to the control and remyelination groups. Walking test results of the demyelination group showed that increased overlap and the orthogonal distance from the toe of one paw to the hind pad of the opposite paw (TOF). Open field area test results of the demyelination group showed that decreased locomotor activity. Tail flick test results indicated that demyelination group's latency was longer than remyelination group.

**Conclusion:** According to our results, cuprizone is a suitable agent for creating MS model on mice. In the continuation of the current work, we believe that the examinations of central and peripheral formations can be used for new projects.

**Key Words:** Multiple sclerosis, cuprizone, gavage, demyelination, animal model.

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b>	i
<b>ABSTRACT</b>	ii
<b>İÇİNDEKİLER</b>	iii
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	v
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	vii
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b>	viii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Multipl Skleroz	3
2.1.1. Tanım ve Tarihçe	3
2.1.2. Epidemiyoloji	4
2.1.3. Klinik Bulgular	6
2.1.4. Patogenez	6
2.1.5. Tanı	10
2.1.6. Klinik Sınıflandırma	10
2.1.7. Tedavi	12
2.2. Miyelin Kılıf	12
2.2.1. Miyelin Yapısı	14
2.2.2. Miyelin Proteinleri	14
2.2.3. Miyelin Fonksiyonu	15
2.3. Hayvan Modelleri	15
2.3.1. Otoimmün Model	16
2.3.2. Viral Model	16
2.3.3. Kimyasal Temelli Model	17
2.3.4. Genetik Model	19
2.4. Kuprizon Hayvan Modelinde Patogenez	19



<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	22
3.1. Deneş Modelinin Oluşturulması ve Kullanılan Deneş Hayvanları	22
3.2. Deneş Gruplarının Oluşturulması	22
3.3. Davranış Testleri	23
3.3.1. Yürüme Testi	23
3.3.2. Açık Alan Testi	24
3.4. Tail Flick Testi	24
3.5. Histolojik İnceleme	24
3.5.1. Parafine Gömme İşlemi İçin Doku Takibi	24
3.5.2. İmmunohistokimya Yöntemi	25
3.5.3. Beyin Dokularının Fotoğraflanması	27
3.5.4. Image J Analizi	27
3.6. İstatistiksel Analiz	27
<b>4. BULGULAR</b>	29
4.1. Makroskobik Bulgular	29
4.1.1. Vücut Ağırlığı	29
4.1.2. Yürüme Testi	29
4.1.3. Açık Alan Testi	30
4.1.4. Tail Flick Testi	32
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular	32
4.2.1. Hippocampus'ta GFAP ve MBP Ekspresyonları	32
4.2.2. CC'da GFAP ve MBP Ekspresyonları	37
<b>5. TARTIşMA</b>	42
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	50
<b>KAYNAKLAR</b>	52
<b>ÖZGEÇMİş</b>	64

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. MS hastalığının, hastaların yaşlarına göre dağılım yüzdeleri	5
Şekil 2.2. MS patogenezinin şematizasyonu	7
Şekil 2.3. FLAIR ağırlıklı görüntüde perikallosal demiyelinizan plaklar	8
Şekil 2.4. MS plaklarının postkontrast transvers T1 ağırlıklı MR görüntüsü	9
Şekil 2.5. Hastalığın klinik seyri, tiplerine göre gösterilmesi	11
Şekil 2.6. Sağlıklı ve MS hastalığındaki sinir hücresi miyelin kılıfının şematize şekli	21
Şekil 3.1. Deney modeli	23
Şekil 4.1. Hayvanların vücut ağırlıklarının haftalara göre değişimi	29
Şekil 4.2. Yürüme testine ait görüntüler	30
Şekil 4.3. Alınan yol miktarına ve hızlarına ait grafikler	31
Şekil 4.4. DK, D, RK ve R grupları beyin dokularında hippocampus'u gösteren GFAP'nin ve MBP'nin immunohistokimyasal ekspresyonları	33
Şekil 4.5. Total hippocampus'ta % GFAP ve % MBP ekspresyon miktarları	33
Şekil 4.6. Hippocampus'un CA alanlarında GFAP immunreaksiyonları	34
Şekil 4.7. Hippocampus CA alanlarında % GFAP ekspresyonu	35
Şekil 4.8. Hippocampus'un CA alanlarında MBP immunreaksiyonları	36
Şekil 4.9. Hippocampus CA alanlarında % MBP ekspresyon miktarları	37
Şekil 4.10. Total CC'ta % GFAP ve % MBP ekspresyon miktarı	38
Şekil 4.11. CC'un splenium, trunkus ve genu alanlarında GFAP immunreaksiyonu	39

- Şekil 4.12.** CC'un splenium, trunkus ve genu alanlarında gruplararası % GFAP ekspresyon dağılımı 39
- Şekil 4.13.** CC'un splenium, trunkus ve genu alanlarında MBP immunreaksiyonu 40
- Şekil 4.14.** CC'un splenium, trunkus ve genu alanlarında gruplararası % MBP ekspresyon dağılımı 41



## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 2.1.</b> MS hastalığının klinik bulguları	6
<b>Tablo 4.1.</b> Tail flick testinde ortalama kuyruk çekme süreleri	32



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ADEM</b>	Akut Dissemine Ensefalomyelit
<b>APC</b>	Antigen Presenting Cells
<b>APP</b>	Amyloid Precursor Protein
<b>BOS</b>	Beyin Omurilik Sıvısı
<b>CA</b>	Commissura Anterior
<b>CAT</b>	Katalaz
<b>CC</b>	Corpus Callosum
<b>CNPase</b>	2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase
<b>DHC</b>	Dorsal Hippocampal Commissure
<b>EAE</b>	Experimental Autoimmune Encephalomyelitis
<b>GFAP</b>	Glial Fibrillary Acidic Protein
<b>IHC</b>	İmmunohistokimya
<b>KİS</b>	Klinik İzole Sendrom
<b>MAG</b>	Myelin Associated Glycoprotein
<b>MBP</b>	Myelin Basic Protein
<b>MHC</b>	Major Histocompatibility Complex
<b>MOG</b>	Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein
<b>MRG</b>	Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>MS</b>	Multipl Skleroz
<b>MSS</b>	Merkezi Sinir Sistemi

<b>MT</b>	Metallothionein
<b>OPCs</b>	Oligodendrocyte Progenitor Cells
<b>PLP</b>	Proteolipid Protein
<b>PP</b>	Primer Progresif
<b>PR</b>	Progresif Relapsing
<b>PSS</b>	Periferik Sinir Sistemi
<b>RR</b>	Relapsing-Remitting
<b>SP</b>	Sekonder Progresif
<b>TCR</b>	T-Cell Reseptor
<b>TMEV</b>	Theiler's Murine Encephalomyelitis Virus
<b>TOF</b>	Sağ Arka Topuk ile Sol 3. Parmak Arası Uzaklık

## 1. GİRİŞ

Multipl Skleroz (MS), genelde genç erişkinlerde görülen, merkezi sinir sistemini (MSS) etkileyen, kronik, otoimmün ve demiyelinizan bir hastalıktır (Hafler ve ark., 2005).

MS ilk olarak 1838 yılında tanımlanmış ve takip eden 6 dekat boyunca Alman ve Fransız doktorlar hastalığın klinik ve patolojik özelliklerini ortaya koymuşlardır. MS'in son 30 yıl içindeki toplam görülme sıklığı, 100.000'de 83 oranında olmakla birlikte kuzey ülkelerinde daha yüksektir. Yayınlık oranları, tüm ülkeler ele alındığında kadınlar da daha yüksektir. Avrupa'da tahmini ortalama yıllık MS insidans oranı, her 100.000 için 4.3 hastadır. MS ile ilgili epidemiyolojik veriler çok olmasına rağmen, Avrupa ülkeleri arasında epidemiyolojik indekslerin karşılaştırılması zordur ve çoğu zaman yaklaşık tahminlere sebep olmaktadır (Pugliatti ve ark., 2006).

Türkiye'de gerçekleştirilen epidemiyolojik çalışmalarda da, MS prevalansının 1000 yetişkinde 0,4-1 arasında olduğu bildirilmiştir (Turk Boru ve ark., 2006).

MS oldukça heterojen bir hastalık olup MSS'nin etkilendiği bölgeye göre; motor, duyu, otonom ve kognitif bozuklukları içeren çok değişken klinik belirti ve bulgulara sahiptir (Noseworthy ve ark., 2000). MS hastalığının klinik progresyonundan sorumlu mekanizmalar özellikle de relapsing-remitting formdan progresif forma geçişteki mekanizmalar hala tam olarak anlaşılamamıştır (Bielekova ve Martin, 2004). Hastalık genellikle erken erişkin dönemde başlamakta, hastaların çoğunda 10-30 yıllık bir süre içinde ciddi ve geri dönüşü olmayan nörolojik hasarlara yol açmaktadır. MS'in klinik semptom ve bulguları oldukça çeşitlidir (Compston ve Coles, 2002).

MS patofizyolojisinin tam olarak anlaşılamamış olması, mevcut tedavilerin yetersiz kalması ve sık görülen bir genç erişkin hastalığı olması bu hastalığı önemli bir araştırma konusu haline getirmektedir (Karabudak, 2013). Bugüne kadar MS patofizyolojisinde genetik ve çevresel risk faktörlerinin önemli rol oynadığı tartışılmasına rağmen spesifik bir MS patogenezi tanımlanamamıştır. MS hastalığı uzun yıllardır çalışılmasına rağmen, hastalığın sadece bazı yan etkilerine karşı

tedaviler geliştirilebilmiştir. MS ile ilgili çalışan araştırmacıların insanlardan MS dokuları elde etme imkanı olmadığından, hayvan çalışmaları çok daha fazla önem kazanmıştır (Aleksandar ve ark., 2011). Bu nedenle, MS hayvan modelleri, hastalığın başlangıcı ve progresyonunun anlaşılmasında ve hastalık için yeni tedavi yaklaşımlarının test edilmesinde önemli rol oynamaktadır.

Literatürde MS hastalığı ile ilgili yapılmış pek çok hayvan çalışması olmasına rağmen (Hibbits ve ark., 2009; Kipp ve ark., 2009; Hochstrasser ve ark., 2017) Türkiye’de bu konuda yapılmış çalışmaların sayısı oldukça azdır (Karayığıt, 2012; Terzioğlu, 2012; Basoglu, Boylu, ve Kose, 2013; Karabulut, 2013).

Çalışmamızın amacı, gavaj ile verilen %0,2’lik kuprizon aracılığı ile sistemik demiyelinizasyon yaratıp, MS modelinin oluşturulması ve hastalığın patogenezi ile ilgili mekanizmaların aydınlatılmasıdır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Multipl Skleroz

#### 2.1.1. Tanım ve Tarihçe

MS, genelde genç erişkinlerde görülen ve MSS'yi etkileyen, kronik, otoimmün ve demiyelinizan bir hastalıktır. MS, MSS'nin prototip inflamatuvar otoimmün bozukluğu olup genç yetişkinlerde nörolojik özürülüğün en yaygın sebebidir. Tüm bu kompleks özelliklerin yanında MS henüz tanımlanamayan çevresel faktörler ve yatkın genler arasındaki bir etkileşime bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu faktörler, immün sistemin de dahil olduğu, akson ve glialarda akut inflamatuvar hasar, fonksiyonel ve yapısal onarım, post-inflamatuvar gliozis ve nörodejenerasyon yolağını tetiklemektedir (Compston ve Coles, 2002).

MS ilk olarak 14. yüzyılda tanımlanmış olup (Kumar ve ark., 2011); izleyen 6 dekat boyunca Alman ve Fransız doktorlar hastalığın klinik ve patolojik özelliklerini ortaya koymuşlardır (Lublin, 2005; Murray, 2009).

Sir Robert Carswell sinir sisteminde görülen yaygın demiyelinizan lezyonları tanımlayan ilk kişi olmakla birlikte bunu klinik ile ilişkilendirememiştir (Kumar ve ark., 2011). Demiyelinizan lezyon geliştiren bir hastanın klinik bulgularını ilk belgeleyen Jean Cruveilhier olmuştur. Fakat bu bulguların sonuçları tam olarak anlayamamıştır (Pearce, 2005; Murray, 2009). Bu bulgular MS'e özgü olmamasına rağmen, bu hastalığı sinir sistemini etkileyen benzer hastalıklardan ayırma girişiminde bulunduğu için önemlidir (Poser ve Brinar, 2001).

MS semptomları ile otopsi örneklerinde görülen patolojik değişiklikler arasındaki bağlantıyı ilk olarak Fransız nörolog Jean-Martin Charcot (1825–1893) tanımlamıştır. Charcot gördüğü bu değişiklikleri “la sclérose en plaques” (skleroz ve plaklar) olarak tanımlayıp ve MS'in yeni bir hastalık olduğunu fark etmiştir.

Böylelikle Charcot'un, ventrikülden serebral hemisferlere kadar lezyonların genişlemesini gösteren ilk çizimleri eşliğinde, 1868 yılında MS'in ayrıntılı tanımlaması yapılmıştır (Lublin, 2005; Murray, 2005; Pearce, 2005). Charcot, daha sonra post-mortem bulgularla semptomları ilişkilendirerek MS'in çeşitli formlarını

(sefalik, spinal ve spinal/serebrospinal) tanımlamaya devam etmiştir. Bunun dışında miyelin kaybı gibi histolojik değişiklikleri de tanımlamıştır (Pearce, 2005).

Bu hastalık hakkında düzenli olarak dersler veren Charcot, MS'i bir hastada teşhis eden ilk kişi olmuştur (Pearce, 2005; Kumar ve ark., 2011). Charcot, MS triadının (nistagmus, esansiyel tremor, ağır aksak konuşma) bulunduğu tanı kriterlerinin geliştirilmesine de katkıda bulunmuştur (Kumar ve ark., 2011). MS plaklarında aksonal faaliyet ve remiyelinizasyonun yanında histopatolojik gözlemlerin sonuçları ve hastalıkla ilişkileri ancak yakın zamanlarda tanımlanabilmiştir (Murray, 2009). MS'in farklı bir hastalık olarak tanımlanması o dönem için büyük bir başarı olarak algılanmıştır. Çünkü, 19.yy'da sınıflanan pek çok hastalık gibi nörolojik ya da psikiyatrik olarak sınıflandırılacak olsaydı, bireysel koşullar arasında ayırım yapılmaksızın "sinirsel hastalıklar" adı altında genel bir sınıflandırmaya göre gruplandırılmış olacaktı (Murray, 2009). Ancak, nörolojik hastalıkların bu şekilde sınıflandırılması, Charcot'dan önce dikkate alınmamıştı. O dönemde sadece epilepsi, parapleji ve nörosifiliz gibi küçük bir grup nörolojik hastalık tanımlanmıştı (Murray, 2009). Önceden sadece olgular şeklinde belirtilen bu hastalık 20.yy'ın başlarında nörolojide en sık görülen hastalıklardan biri haline gelmiştir. Şimdilerde dünyada 2,5 milyon MS hastası bulunmaktadır ve bu hastaların tedavisi ve bakımı milyar dolarlara mal olmaktadır (Compston ve ark., 2006).

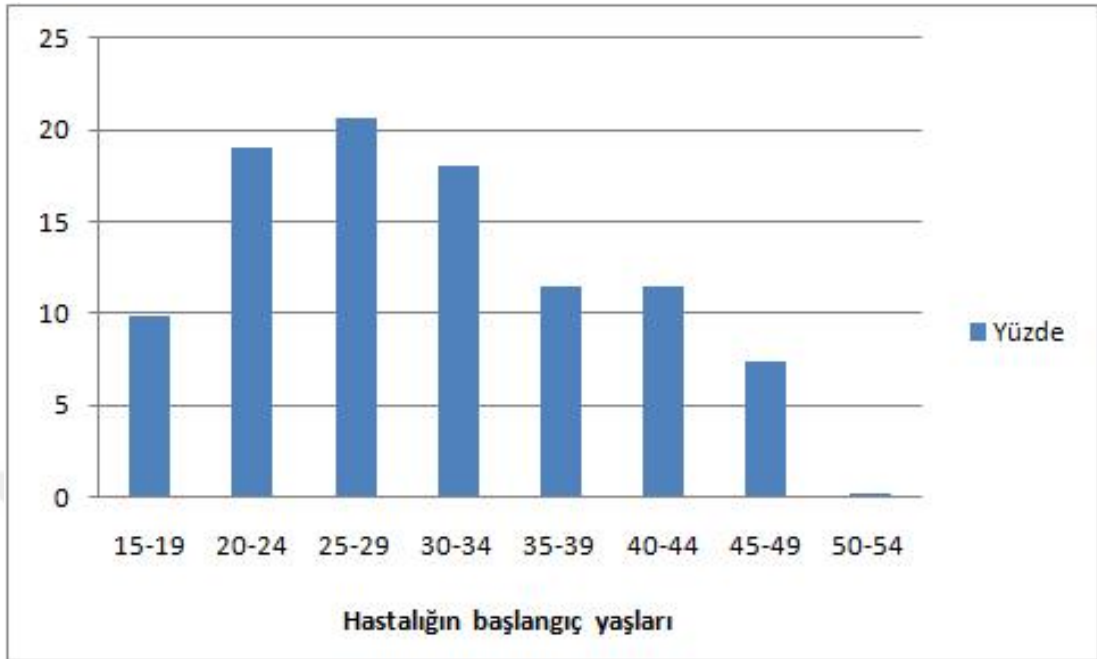
### **2.1.2. Epidemiyoloji**

Dünya çapında 1 milyondan fazla MS hastası bulunmakla birlikte (Pithadia, Jain, ve Navale, 2008) hastalığın son 30 yıl içindeki toplam görülme sıklığı, 100.000'de 83 oranındadır. Avrupa da tahmini ortalama yıllık MS insidans oranı, her 100.000 için 4.3 hastadır (Pugliatti ve ark., 2006).

Türkiye'de gerçekleştirilen epidemiyolojik çalışmalarda, MS prevalansı 1000 genç yetişkinde 0,4-1 arasında izlenmiştir (Turk Boru ve ark., 2006). Türkiye'de MS'in başlangıç yaşının yaklaşık 30 olduğu ve ailesel MS görülme sıklığının %11,5 olduğu bildirilmiştir (Bulut, Kılıç, ve Demir, 2011).

MS hastalığının kadınlarda görülme sıklığının, erkeklerden 1,5-2 kat fazla olduğu bildirilmiştir. Hastalığın başlangıç yaşına göre dağılım sıklığı genç erişkinlerde, ileri

yaşlardaki kişilere göre daha fazladır (Şekil 2.1) ( Paradiso, 1996; Compston ve ark., 2006; Bulut, Kılıç, ve Demir, 2011).



Şekil 2.1. MS hastalığının, hastaların yaşlarına göre dağılımı yüzdeleri (Bulut, Kılıç, ve Demir, 2011).

Dünyada, MS prevalansı ile ilgili değişik etnik kökenlerde ve bölgelerde yapılan çalışmalar hastalığın dağılımında farklılıklar olduğunu göstermektedir. Bu hastalığa Amerikan Kızılderilileri'nde rastlanmaz iken, Avrupa ırklarında sıklıkla rastlanmaktadır (Rosati, 2001). Kuzey Avrupa, Güney Kanada, İsrail, Kuzey Amerika, Yeni Zelanda ve Güney Avustralya'da görülme sıklığının yüksek olduğu belirtilmiştir. Bu bölgelerde prevalans 1000'de 3'lere kadar çıkmaktadır. Asya'da ise çok daha seyrek görülmektedir (Nielsen ve ark., 2005).

Gelişmiş ülkelerde hijyen şartlarının daha iyi olmasına bağlı olarak, bir grup çalışmacı MS gibi otoimmün hastalıklar için Hijyen Teorisi'ni öne sürmüşlerdir. Hijyen Teorisi'ne göre küçük yaşta hastalık etmenlerine maruz kalmayan bireylerin bağışıklık sisteminin gelişemediği düşünülmektedir (Terzioğlu, 2012).

Ekvator'dan uzaklaştıkça hastalığın görülme sıklığı artmakta ve buna paralel olarak ekvator'dan uzaklaştıkça alınan güneş ışığı miktarı da azalmaktadır. Bu da güneş ışığı alımı ile direkt olarak bağlantılı olan D vitamini ile ilgili çalışmalar yapılmasına sebep olmuştur. Bol D vitamini içeriğine sahip olan balık ile beslenen kişilerde MS prevalansı hem daha düşüktür hem de hastalık daha hafif seyretilmektedir (Hayes, 2000).

### 2.1.3. Klinik Bulgular

MS her yaşta görülebilen fakat, genç erişkinlerde daha sık rastlanan bir hastalıktır. Hastalık genellikle erken erişkinlik döneminde başlayıp, hastaların çoğunda 10-30 yıllık bir süre içinde ciddi ve geri dönüşü olmayan nörolojik sakatlığa dönüşmektedir ( Lucchinetti ve ark., 2000; Compston ve Coles, 2002). MS oldukça heterojen bir hastalık olup MSS'nin etkilendiği bölgeye göre motor, duyu, otonom ve kognitif bozuklukları içeren çok değişken klinik semptomları olabilmektedir (Noseworthy ve ark., 2000; Turan, 2013) (Tablo 2.1).

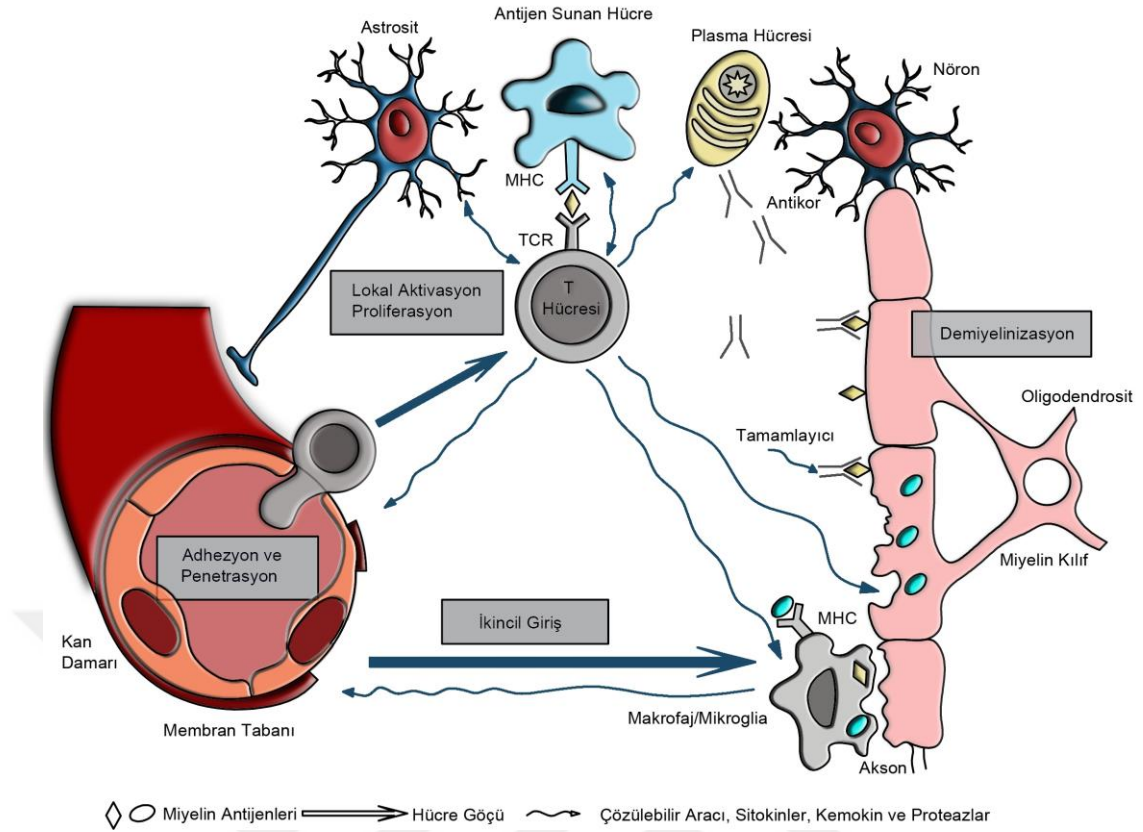
**Tablo 2.1.** MS hastalığının klinik bulguları.

Motor Semptomlar	Somatosensoriyal Semptomlar	Kognitif ve Psikiyatrik Semptomlar	Diğer Semptomlar
Kortikospinal yol tutulumu Başlangıçta tek bacakta daha sonra iki taraflı tutulum Derin tendon reflekslerinde artış Spasitede artış Spasite sebebiyle ağrı, kramp, spazm	Uyuşukluk Yanma Gerilme Karıncalanma Gövde ve ekstremitelerde bant şeklinde anormal duyular Boynun ani öne fleksiyonunda omurilikte, kol ve bacaklarda ani elektriklenme, çarpılma hissi	Depresyon Bipolar bozukluk Görsel ve işitsel dikkat eksikliği Bellek çağırışım sorunları	Yorgunluk Bulanık görme Dizartrik konuşma Optik nörit Başlangıçta yürüme ataksisi, kronik hastalarda gövde ataksisi Miksiyon ve defekasyon bozuklukları

### 2.1.4. Patogenez

Hastalığın etiyojisi hala tam olarak anlaşılamamış olsa da MS hastalarının MSS'ye ait dokularındaki temel patolojik özellikler hastalığın patogenezini için bir ipucu oluşturmaktadır. MS'in otoimmün niteliği üzerindeki tartışmalar devam ederken, miyelin ve sinir hücrelerinin yıkımına immün sistemin direkt olarak katıldığı kesin olarak saptanmıştır. MS hastalarında MSS'de inflamatuvar infiltrasyonlar, astrogliozis, demiyelinizasyon ve erken aksonal hasar gibi çeşitli lezyonlar görülebilmektedir (Lucchinetti ve ark., 2000).

MS'de beyaz cevher plakları, normal görünümlü beyaz cevher, gri cevher plakları, antijen sunucu hücre (APC) ve T hücre aktivasyonu, aksonal ve nöronal hasar gibi patolojik değişiklikler görülebilmektedir (Şekil 2.2).



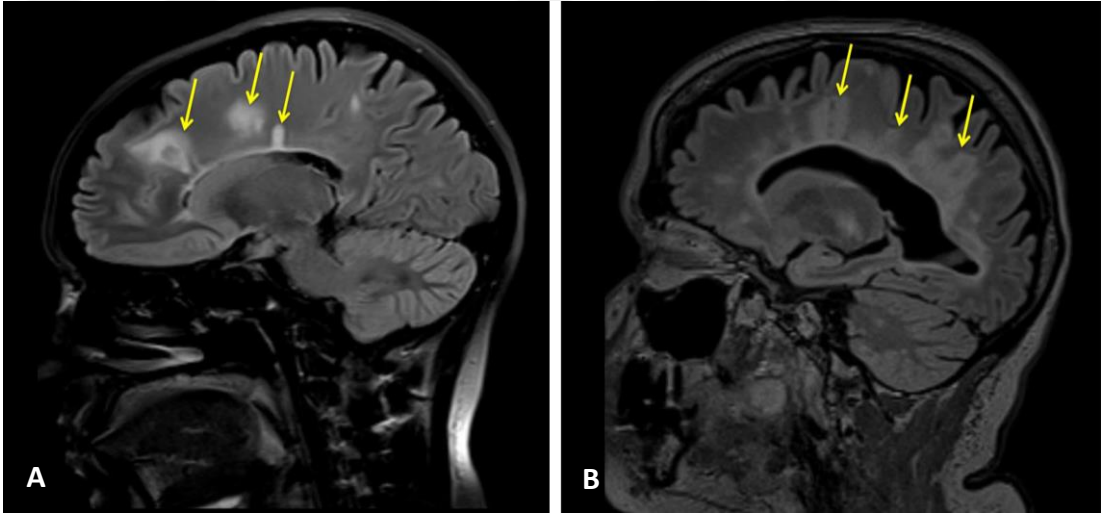
**Şekil 2.2.** MS patogenezi. İmmun sistemde bulunan oto-reaktif T hücreleri MSS'nin dışında aktive olur. Lokal aktivasyondan sonra, T hücreleri mikroglia ve astrositleri stimule edici sitokin salınımını gerçekleştirirler. Plazma hücreleri tarafından da antikor üretimi tetiklenir. Anti-miyelin antikorlar, aktive makrofaj/mikroglialar ve sitotoksik T hücreleri miyelin ve akson hasarı yaratmak için iş birliği yaparlar. MHC: major histokompatibilite kompleksi, TCR: T-hücre reseptörü.

### Beyaz Cevher Plakları

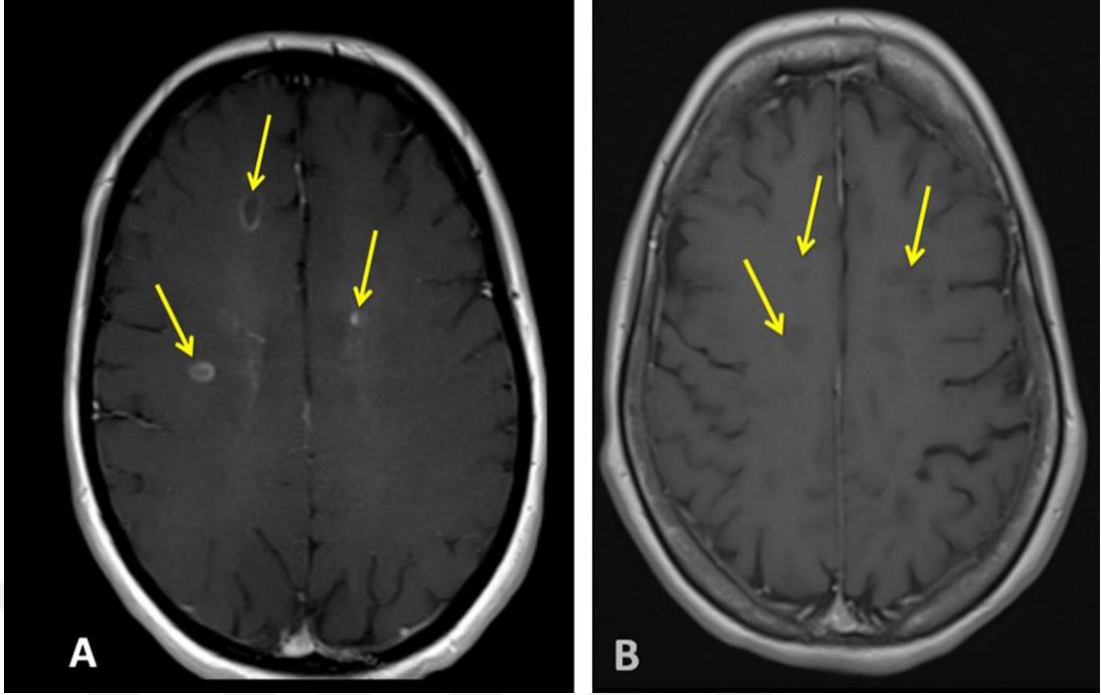
MSS'deki inflamatuvar demiyelinizasyon plakları, MS için ayırt edici bir patolojik belirteçtir (Compston ve ark., 2006; Frohman, Racke, ve Raine, 2006). Lezyon oluşumunun ilk aşamasında akut MS plakları görülür ve bu plaklarda yoğun inflamatuvar infiltrasyon ile birlikte lezyon boyunca yayılmış demiyelinizasyon görülür (Frohman, Racke, ve Raine, 2006; Schmidt, 2010). Akut plakların histolojisinde, miyelin kaybına bağlı olarak düzensiz yapılar, parankimal ödem ve bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonu dikkat çekmektedir (Frohman, Racke, ve Raine, 2006). Lenfositler (baskın olarak T hücreleri), monositler ve makrofajlar damarların etrafına infiltre olup, perivasküler manşet oluşturur. Kronik plaklar, glial skarlaşma ve miyelin kaybıyla birlikte hiposelüler bir alan ile karakterizedir. Post-mortem dokuların incelenmesinde, MSS'nin hedeflenen alanlarında çoğunlukla sıkı kronik plaklar görülür ve rengi bozulmuş olanlar fark edilir. Histolojik incelemelerde kronik plakların lezyon kenarları akut plaklarınkine kıyasla daha belirgindir. Aktif plaklar erken aktif ve geç aktif plaklar olmak üzere iki gruba ayrılır. Erken aktif plaklar hem

minör miyelin proteinlerini (2',3'-siklik nükleotid 3'-fosfodiesteraz (CNPase), myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG), myelin associated glycoprotein (MAG)) hem de major miyelin proteinlerini (myelin basic protein (MBP), myelin proteolipid protein (PLP)) içerirken; geç aktif plaklar sadece major miyelin proteinlerini içerir (Bruck ve ark., 1995). Yavaş genişleyen beyaz madde plakları, tipik olarak aktif mikrogliolarla çevrilidir (Frischer ve ark., 2015).

Radyolojik incelemelerde FLAIR ağırlıklı görüntülerde akut ve kronik MS'de birbirine benzer perikalozal demiyelinizan plaklar izlenebilmektedir (Şekil 2.3). Kontrast madde verilmesini takiben çekilen T1 ağırlıklı görüntülerde ise aktif MS plaklarında kontrast madde tutulumu görülürken; kronik plaklarda görülmemektedir (Ikeda ve ark., 2011) (Şekil 2.4).



**Şekil 2.3.** FLAIR ağırlıklı görüntüde perikalozal demiyelinizan plaklar. **A)** 30 yaşında kadın hasta (Akut MS), **B)** 24 yaşında kadın hasta (Kronik MS) (MR görüntüleri Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı izniyle kullanılmıştır).



**Şekil 2.4.** MS plaklarının postkontrast transvers T1 ağırlıklı MR görüntüsü **A)** 30 yaşında kadın hastada görüntüde aktif plaklara ait kontrast madde tutulumu izlenmektedir. **B)** 24 yaşında kadın hastada plaklarda kontrast madde tutulumunun olmadığı izlenmektedir (MR görüntüleri Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı izniyle kullanılmıştır).

### **Normal Görünümlü Beyaz Cevher**

MS'li hastalarda normal görünümlü beyaz cevherin histopatolojik incelemesinde, plakların etrafında immunopatolojik değişikliklere benzer değişiklikler izlenmiştir (Kutzelnigg ve ark., 2005). Normal görünümlü beyaz cevherde de mikrogliyal aktivasyon, T hücre infiltrasyonu ve perivasküler manşet varlığı kaydedilmiştir (Ikeda ve ark., 2011).

### **Gri Cevher Plakları**

MS plakları beyaz cevher ile sınırlı değildir. Gri cevher lezyonları, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve patolojik örneklerin incelenmesi ile saptanmaktadır (Geurts ve ark., 2005). Progresif MS hastalarında yapılan çalışmalarda MSS içindeki gri cevher çekirdeklerinin çoğunun etkilenebildiği gösterilmiştir. Ancak, MSS'de bazı bölgeler özellikle motor korteks, medulla spinalis ve cerebellum gri cevher dejenerasyonuna daha hassastırlar (Gilmore ve ark., 2009).

### **MS'te Antijen Sunucu Hücrelerin Rolü**

APC, T hücrelerine antijen sunar ve MHC'nin de katılımıyla sitokin sekresyonu, kostimulatör sinyaller ve adaptif immün yanıtın oluşturulmasını sağlarlar (Chastain ve ark., 2011). Plaklar ve sınırındaki alanlarda lenfosit infiltrasyonunun görülmesi, özellikle T lenfositler tarafından uyarılan adaptif immün yanıtın, MSS'deki miyelin ve sinirlerin hasarlanmasında aracı olduğunu düşündürmektedir (Wu ve Alvarez, 2011).

### **MS'te Aksonal ve Nöronal Hasar**

MS'teki yoğun inflamatuvar yanıt aksonal hasarla ilişkilendirilmiştir. MS, aksonal miyelin kaybı ile karakterize bir hastalık olarak tanımlansa da, MS lezyonlarının erken dönem patolojik bulgularında aksonal hasarda gösterilmiştir. MS lezyonlarının olduğu aktif inflamatuvar alanlarda hasarlı aksonları gösterebilmek için anti amiloid öncü protein'ler (anti-APP) kullanılmakta ve hasarın boyutu değerlendirilmektedir (Ferguson ve ark., 1997).

#### **2.1.5. Tanı**

MS hastalığında erken dönemde tanı koyabilmek, hastaya uygulanacak uygun tedavi seçimi ve takibi için önemlidir. Hastalığın kesin tanısı için kullanılabilecek bir laboratuvar yöntemi bulunmamaktadır. MS tanısı, hastanın şikayetlerine, hastalığın gidişatına ve muayenesine dayanmaktadır. Tanı tıbbi öykü, nörolojik muayene, görüntüleme/MRG, BOS tetkiki, uyarılmış potansiyeller, görsel uyarılma potansiyelleri (VEP) yardımıyla kolayca konulabilmektedir (Boz, 2013).

#### **2.1.6. Klinik Sınıflandırılma**

MS hastalığı seyrine göre; benign (iyi huylu), relapsing-remitting (RR), sekonder progresif (SP), primer progresif (PP), progresif relapsing (PR) olmak üzere klinik tiplere ayrılmaktadır (Oh ve ark., 2008).



Klinik seyir beş başlık altında tanımlanmaktadır;

### 1) Benign MS

Akut atakları izleyen tam ya da tama yakın düzelme dönemleri mevcuttur. Ataklar arasında hastalıkta ilerleme gözlenmemektedir (Şekil 2.5).

### 2) RR MS

Hasta önceden kestirilemeyen ataklarla kötüleşmekte, ara dönemlerde ise düzelme göstermektedir, fakat hastalık sabit bir eğilimle kötüye gitmektedir (Şekil 2.5).

### 3) SP MS

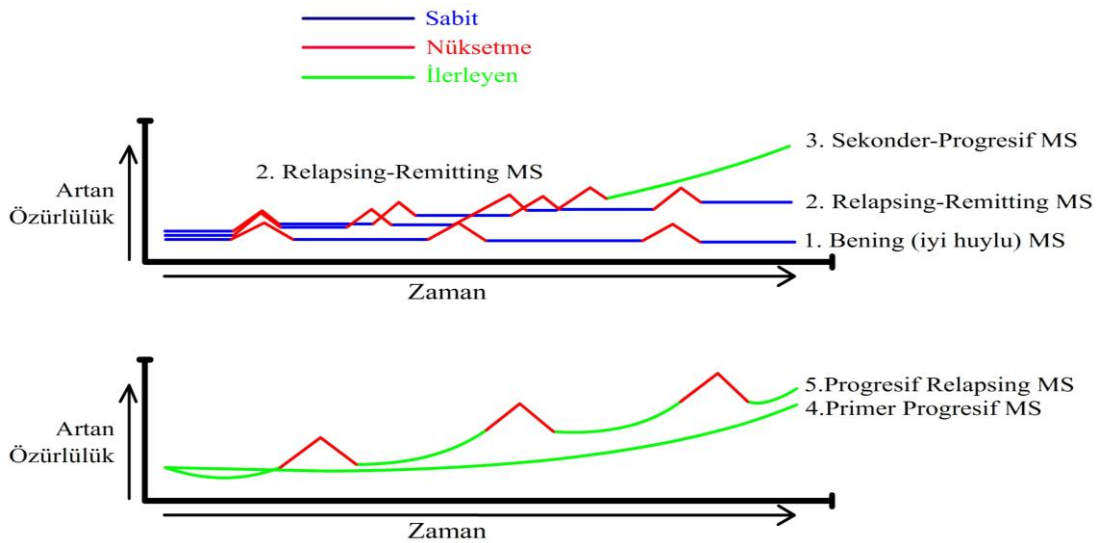
Ortalama 5-6 yıllık erken dönem sonrası sekonder progresif dönemdir. Atak ve iyileşmeler ile giden bir dönemin ardından atak sayısının azaldığı, düzelmenin az olduğu, özürülüğün giderek arttığı tablolarıdır (Şekil 2.5). SP MS, RR formda başlayıp SP forma dönmektedir.

### 4) PP MS

Genellikle iyileşme kaydedilmeden, başlangıçtan itibaren hastalığın ilerlemesi ile karakterize klinik tablodur. Seyir hızlı ya da yavaş olabilmektedir (Şekil 2.5) (Ünal, Mavioğlu, ve Emre, 2016).

### 5) PR MS

Bu formda başlangıçtan itibaren ataklar yaşansa da sürekli bir ilerleme mevcuttur (Şekil 2.5) (Oh ve ark., 2008).



Şekil 2.5. Hastalığın klinik seyri, tiplerine göre gösterilmesi.

RR formda MS görülen hastaların çoğu 8-15 yıl içinde, aksonal kayıp belli bir eşik değerini aştığında SP forma geçmektedir (Turan, 2013).

Aslında MS, PP MS hariç bir veya birkaç sistemi tutan klinik izole sendrom (KİS) ile başlar. En iyi bilinen KİS'ler optik nörit, beyin sapı/serebellar tutulum ve omurilik parsiyel etkilenmesidir. Her KİS MS'e dönüşmemektedir. Yapılan çalışmalarda 5 yıl içinde KİS'in MS'e dönüşme olasılığının BOS ve MRG negatif ise %30, BOS ve MRG'den biri pozitif ise %50, her ikisi de pozitif ise %80 olduğu bildirilmiştir (Karabudak, 2013).

MS hastalığının klinik gidişatından sorumlu mekanizmalar özellikle RR formdan progresif forma geçiş mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Bielekova ve Martin, 2004).

Vakaların %90'ının nörolojik defisitleri tam veya kısmi iyileşme göstermektedir (RR MS). Bu hastaların %50'si nörolojik fonksiyonların progresif olarak kaybolduğu ve iyileşmenin artık gerçekleşmediği progresif faza girmektedir (SP MS). Hastaların %10'unda, hastalığın başlangıcından itibaren nörolojik defisitler görülmektedir (PP MS) (Lucchinetti ve ark., 2000; Compston ve Coles, 2002).

### **2.1.7. Tedavi**

#### **MS Atak Tedavisi**

MS ataklarında tedavi olarak intravenöz metilprednizolon altın standarttır (Berkovich, 2013). Steroide yanıt vermeyen ya da ciddi steroid yan etkisi olan hastalarda plazmaferez tercih edilmektedir (Gedizoglu, 2013).

MS'de hastalık seyrini değiştiren immünomodülatör etkili tedavi seçenekleri olarak; enjeksiyon tedavileri, oral tedaviler, infüzyon tedavileri, immünoşüpresan tedaviler kullanılmaktadır.

### **2.2. Miyelin Kılıf**

Beyaz cevher ve gri cevher arasındaki morfolojik farklılıklar, sinir sistemi çalışan araştırmacılar için oldukça önemlidir. Parlak beyaz görünümde olan beyaz cevher, miyelinli aksonlardan, glial hücrelerden ve kan damarlarından oluşmaktadır. Gri cevher ise sinir hücresi gövdelerini ve onların dendritik uzantılarını içermektedir.

Miyelin kılıf, aksonun etrafını spiral tarzda saran genişlemiş ve modifiye olmuş plazma membranıdır. Beyaz cevherin baskın bileşeni olan miyelin kılıf, total kuru ağırlığın yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır ve beyaz cevher ile gri cevher arasındaki farklılıktan sorumludur (Quarles, Macklin, ve Morell, 2005).

Miyelinsiz liflerde  $Na^+$  kanalları akson ve membranı boyunca dağılmıştır ve uyarı bir dalga formatında art arda iletilmektedir. Miyelinli aksonlarda ise miyelin kılıf düzenli aralığa sahip dar ve halka şeklinde boğumlanmalar göstermektedir. Bu boğumlara, 'Ranvier nodu' adı verilmektedir. Ranvier nodları  $Na^+$  kanallarının bulunduğu yer olup, akson uyarılınca sinaptik ileti bir noddan diğerine sıçrar. Bu tarz iletme saltatorik iletim denir. Depolarizasyon dalgasının bu hareketi miyelinsiz liflerdekine göre daha hızlıdır (Quarles, Macklin, ve Morell, 2005).

Miyelin kılıfın meydana gelme sürecine miyelinizasyon adı verilmektedir (Dere, 2000). Miyelinizasyon, kompleks bir yapıyı oluşturmak için birçok hücrenin nasıl iş birliği yaptığının çarpıcı bir örneğidir. Son derece uzmanlaşmış miyelin üreten glial hücreler, periferik sinir sisteminde (PSS) Schwann hücreleri iken MSS'de oligodendrositlerdir (Boiko ve Winckler, 2006). Her oligodendrosit 50 farklı aksonun miyelin kılıfı oluşumuna katkıda bulunabilmektedir. Aksonu saran Schwann ve oligodendrosit hücreleri, bazen aksonun veya glia hücresinin fazlaca yer değiştirmesine bağlı olarak birbirini saran, kalın eş merkezli tabakalar oluşturarak miyelin kılıfı yapmaktadırlar (Dere, 2000).

Demiyelinizasyon, aksonlara zarar vermeksizin miyelin kılıfın yapısının tahrip olmasına neden olan patolojik süreci ifade etmektedir (Lampert, 1978).

Demiyelinizan hastalıklara örnek olarak MS, optik nörit, optik nöromiyelit (Devic's hastalığı), transvers miyelit, akut dissemine ensefalomyelit (ADEM) ve santral pontin miyelinoliz gösterilebilmektedir. MS, MSS'de en sık görülen demiyelinizan hastalıktır (Mehanna ve Jankovic, 2013). Klinik belirtilere sebep olan lezyonlar özellikle ventrikulus lateralis'lerin çevresinde, beyin sapı beyaz cevherinde, cerebellum'da ve omurilikte bulunur (Öcek ve ark., 2014).

### **2.2.1. Miyelin Yapısı**

Canlı dokudaki miyelin %40 oranında su içermektedir. Sinir sisteminde miyelinin kuru ağırlığının %70-85'i lipid ve %15-30'u proteinden oluşmaktadır (Morell, Quarles, ve Norton, 1994).

Biyolojik membranlar, proteinden daha çok yağ oranına sahiptirler. Miyelin kılıf gibi membranlarda bu oran diğer sistemlerdeki biyolojik membranlarla karşılaştırıldığında yapısındaki yağ oranı daha da çoktur. Günümüzde kabul edilen membran modeli, çift katlı lipid membran modelidir. Bu modelde integral membran proteinleri her iki tabaka içerisine gömülükken, periferal proteinler zayıf bağlarla tabakaların dış yüzeyine tutunmaktadır. Bu çift katlı membran içerisinde proteinler ve parsiyel olarak da yağlar asimetrik olarak dağılmıştır. Miyelin kılıfın moleküler mimarisi de bu modele uymaktadır. Miyelin kılıf modelleri, elektron mikroskopisi, immün boyamalar, X-ray kırılmaları, yüzey prob çalışmalarından elde edilen verilere dayanmaktadır (Quarles, Macklin, ve Morell, 2005).

### **2.2.2. Miyelin Proteinleri**

MSS'de, MBP ve hidrofobik PLP olarak adlandırılan proteinler miyelin proteinlerinin büyük bir kısmını oluşturmaktadırlar (Less ve Brostoff, 1984). Bu iki protein, tüm memelilerin MSS miyelin membranlarının major bileşenidir ve birçok alt türün miyelin membranlarında benzer proteinler bulunmaktadır (Quarles, Macklin, ve Morell, 2005).

MOG ise miyelin kılıfın küçük bir bileşenidir ve total miyelin proteinlerinin %0,05'ini oluşturmaktadır (Johns ve Bernard, 1999). PSS'de MBP, total miyelin proteininin %5'i ile %18'i arasında değişirken MSS'de %30'a yakın miktarda bulunmaktadır (Quarles, 2005).

MBP, miyelin membranın sitoplazmik yüzünde yerleşim göstermektedir. Elektron yoğunluğunda bir bileşiktir ve elektron mikroskobu ile açığa çıkarılan büyük yoğun çizginin ana bileşeni olduğu düşünülmektedir (Morell, Quarles, ve Norton, 1994).

### **2.2.3. Miyelin Fonksiyonu**

Sinir sisteminin düzgün bir şekilde fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için bilgilerin zamanında iletilmesi esastır. Miyelinizasyonun aksonal iletim hızında sağladığı artış, nöron gövdeleri ile akson uzantıları arasındaki uzak mesafelerde sinyallerin hızlı bir şekilde iletilmesini ve böylece gelişmiş bilişsel fonksiyonu sağlamaktadır (Fields, 2008). Bu ileti hızı motor yeteneklerin ve duyuşsal entegrasyonun ayarlanmasını sağlamaktadır (Seidl, 2014; Ullén, 2009).

Sonuç olarak, iletim hızı için önem taşıyan iki özelleşmiş yapıda (miyelin kılıf ve ranvier nodu) meydana gelecek bir bozukluk duyuşsal algıyı, bilişsel süreci ve motor faaliyetleri etkileyecektir. Miyelin kılıf kaybından dolayı MS, felç, omurilik yaralanması ve serebral palsi gibi sonuçlar ortaya çıkmaktadır (Arancibia-Carcamo ve Attwell, 2014).

### **2.3. Hayvan Modelleri**

MS, keşfinden bu yana yapılan kapsamlı araştırmalara rağmen, ancak birkaç semptomatik tedavinin geliştirilebildiği, etiyojisi tam olarak bilinmeyen ve etkili bir tedavisi olmayan kompleks bir hastalıktır. Araştırmacıların, insandaki aktif MS doku örneklerine erişimi kısıtlıdır. Bunun yanı sıra, deneysel koşulların modifikasyonu insan çalışmalarında hayvan çalışmalarına kıyasla çok daha sınırlıdır. Bu sebeplerden dolayı hastalığın altında yatan bağışıklık mekanizmalarını ve patolojik mekanizmaları açıklayabilmek ve yeni tedavi yaklaşımları denemek için hayvan modellerine ihtiyaç duyulmaktadır. Tek bir fare modelinin MS'in tüm klinik, radyolojik, patolojik ve genetik özelliklerini yansıtmaması mümkün değildir. Ancak MS hayvan modelleri ile yapılan çalışmalar sayesinde, günümüzde az da olsa MS patogenezi aydınlatılmış, yeni ilaçların denenmesine olanak sağlanmıştır (Procaccini ve ark., 2015).

En yaygın çalışılan MS hayvan modelleri şu şekilde sınıflandırılabilir (Denic ve ark., 2011):

- 1) Otoimmün model
- 2) Viral model
- 3) Toksin kaynaklı demiyelinizasyon modelleri
- 4) Genetik model

### **2.3.1. Otoimmün Model**

Temel olarak otoimmün modellerde deneysel otoimmün ensefalomyelitisten (EAE) bahsedilmektedir. Bu model tipik olarak, miyelin türevi proteinler yada peptidlerin, adjuvan içerisinde yada aktif miyelin-spesifik CD4+T lenfositlerinin pasif transferi ile indüklenir (Robinson ve ark., 2014). EAE, beyinde aşı sonrası gelişen ensefalit ve genel inflamasyonun gösterilmesi için mükemmel bir model olup, MS'in inflamatuvar özelliklerini modellemek için sıklıkla kullanılmaktadır (Denic ve ark., 2011).

EAE modelinde miyelini oluşturan MBP, PLP, MOG gibi çeşitli proteinler bütün ya da kısmi antijen olarak adjuvan ile birlikte hayvana enjekte edilir ve kan beyin bariyeri (KBB) bütünlüğünü kaybeder. MSS'ye infiltre olan immün sistem hücreleri kendi miyelin dokularına karşı reaksiyon oluştururlar (Paus ve ark., 1999). MS hastalarının ve EAE'ye sahip hayvan modellerinin araştırılması, lezyonların ve nörolojik bozuklukların oluşum mekanizmalarının anlaşılmasına olanak sağlamaktadır (Brok ve ark., 2001). Ancak; hiçbir EAE modeli MS'i tam olarak temsil etmemektedir. Bu nedenle bu model MS'te terapötik stratejiler geliştirmek için değerli bir araç değildir (Sriram ve Steiner, 2005).

### **2.3.2. Viral Model**

Epidemiyolojik çalışmalar, genetik zemin varlığında, erken yaşta geçirilen bir viral enfeksiyonun, MSS dokusuna karşı immün sistem-aracılı saldırı yapabileceğini göstermektedir. Bu model, virüs ile hayvanların direkt intraserebral enfeksiyonu ile indüklenmektedir. Bu enfekte hayvanlarda akut ensefalomyelitise sebep olmaktadır. Hastalığın seyri ve mortalitesi, enfeksiyon için kullanılan virüs suşunun virülansına ve spesifik anti-viral T hücre yanıtı başlatmak için konakçı hayvanların genetik yatkınlığına bağlıdır (Lassmann ve Bradl, 2017).

Bugüne kadar MS oluşumuna primer sebep olan spesifik bir virüs bulunmamıştır. MS'e spesifik güncel virüs enfeksiyonu bulunmamasına rağmen, virüs ile indüklenen inflamatuvar demiyelinizasyon deney modelleri temel mekanizmalara, beyinde ve omurilikte böyle patolojik bir durumun neden indüklenebileceğine veya yayılabileceğine dair fikir verebilmektedir. Aynı zamanda bu tür çalışmalar MS ile ilgili inflamasyon mekanizmaları üzerinde, demiyelinizasyonda ve nörodejenerasyonda ek bilgi sağlayabilmektedir (Lassmann ve Bradl, 2017). Bazı

çalışmalarda Epstein-Barr virus enfeksiyonlarının MS ile ilişkilendirilebildiği görülmektedir. MS hastalığında virüslerin etkilerini modellemek için, bazı araştırmacılar virüse bağlı demiyelinizasyon modellerini kullanmışlardır (Aleksandar ve ark., 2011).

Theiler'in murin ensefalomyelit virüsü (TMEV), tek sarmallı RNA pikornavirslerine ait bir patojendir ve 2 alt grubu bulunmaktadır. Alt gruplardan biri, şiddetli ensefalit oluşturması nedeni ile öldürücü suşlardan oluşmaktadır. İkinci grup ise çok daha az öldürücüdür ve MS fare modeli olarak kullanılmaktadır. EAE'nin aksine, hastalık duyarlı farelerde her zaman kronik ilerleyici olmaktadır. TMEV modeli, virüs kaynaklı patolojinin insan MS'i ile benzerlikleri olduğundan, iyi bir model olarak görülmektedir. Fakat TMEV modelinde demiyelinizasyonun kesin mekanizması konusunda fikir birliği yoktur (Olson ve ark., 2001; Tsunoda ve Fujinami, 2002).

Murin hepatitis virüs (MHV) modelinde, MSS'de demiyelinizasyon, inflamasyon, ve yüksek viral seviyeler monofazik durumları meydana getirmekte, devamında viral yükün yavaş yavaş azalması, demiyelinizasyon ve inflamasyonun kısmi olarak iyileşmesi izlenmektedir. Fakat, virüsün tam olarak temizlenmemiş olması ve muhtemelen MSS'nin bölgelerinde virüsün lokal reaktivasyonundan dolayı uzun sreler boyunca yeni demiyelinizasyon alanları ortaya çıkmaktadır (Pachner, 2011).

### **2.3.3. Toksin Kaynaklı Demiyelinizasyon Modelleri**

Kimyasal temelli modellerde çeşitli metotlarla hayvanlara verilen kimyasal ajanlar sayesinde demiyelinizasyon oluşturulmaktadır. Bu modelde kullanılan kimyasal maddeler: etidyum bromür, lizolesitin, 6-aminonikotinamid, anti galaktoserebrozid+antikör komplement ve kuprizondur (Terzioğlu, 2012).

Lizolesitin modelinde %1 lizolesitin omuriliğe 2 µl enjeksiyonu ile demiyelinizasyon alanları hızlı bir şekilde indüklenmektedir. 30 yılı aşkın süre önce, demiyelinizasyonun oligodendrosit üzerine sekonder etkilerden ziyade temel etkisinin miyelin kılıfı yok etmesi üzerine olduğu öne sürülmüştür. Bu modelde demiyelinizasyon bağışıklık aracılı değildir ve yetersiz bağışıklığa sahip olan farelerde bile belirgindir. Lizolesitin enjeksiyonu takiben akut fazda, lezyon bölgelerine sıklıkla T hücreleri, B hücreleri ve makrofajlar infiltre olmaktadır. Bu

kısa süreli infiltrasyon MSS onarımında faydalı bir rol oynamaktadır. Bununla birlikte lezyonlarda kronik infiltrasyon minimal düzeydedir ve 5-6 hafta da tam remiyelinizasyon meydana gelmektedir. Eğer genç hayvanlar kullanılırsa, lizolesitinin oluşturduğu lezyonlar hızlı bir şekilde onarılmaktadır. Aksine daha yaşlı hayvanlarda daha yavaş bir onarım görülmektedir (Denic ve ark., 2011).

Kuprizon modeli diyet ile uygulama kolaylığından dolayı en yaygın kullanılan demiyelinizasyon modellerinden biridir. Bakır şelatörü olan kuprizon, 4-6 haftalık farelere yem ile verilmekte, bu sayede corpus callosum (CC), commissura anterior (CA), bulbus olfactorius, chiasma opticum, beyin sapı, cerebellum, putamen, nucleus caudatus, cerebral cortex ve cingulum'da tekrarlanabilir demiyelinizasyon lezyonlarını indüklemektedir (Aleksandar ve ark., 2011).

Demiyelinizasyonda spesifik hedefler metabolik talebi yerine getiremeyen ve sonuçta apoptoza uğrayan olgun oligodendrositlerdir (Aleksandar ve ark., 2011). Demiyelinizasyonun oligodendrositlere karşı, özellikle de miyelin oluşturan bu hücrelerin mitokondriyal kompleks IV'lerinin tahribatı yoluyla, gelişen seçici toksisiteye bağlı olduğu düşünülmektedir (Rawji ve Yong, 2013). Demiyelinizasyonun kronik olmadığı ve aksonların sağlam kaldığı düşünüldüğünde kuprizon maruziyetinden neden özellikle oligodendrositlerin etkilendiği hala bilinmemektedir (Aleksandar ve ark., 2011). Kuprizonun kesilmesinden sonraki 3-4 hafta içerisinde, öncü oligodendrosit hücrelerinin (OPCs) farklılaşmasını ve iyileşmesini, sonuç olarak da remiyelinizasyonu sağladığına dair çalışmalar literatürde yer almaktadır (Rawji ve Yong, 2013). Ancak kuprizon verilmeye devam edilirse oligodendrositler tamamen yok olmakta ve demiyelinizasyon kalıcı hale gelmektedir.

Kuprizon modeli uygulaması kolay ve tekrarlanabilir olması nedeniyle diğer fokal demiyelinizasyon modellerine göre avantajlıdır. Fakat, istenilen demiyelinizasyonun gerçekleşmesi için birkaç haftadan daha uzun süre gereklidir. Ayrıca, kuprizonun kesilmesinden sonra remiyelinizasyonun hızlıca gerçekleşmesi nedeniyle remiyelinizan ilaçların etkisi gibi remiyelinizasyonun spesifik olaylarını göstermek zordur (Rawji ve Yong, 2013).



#### 2.3.4. Genetik Model

Taiep rat, Shieverer (MBP mutantı), Rumpshaker ve Jimpy (PLP mutantı) gibi miyelin mutantları, aynı zamanda miyelin ilişkili glikoprotein (MAG) knockoutu gibi gen knockout hayvanlar dismiyelinizasyon ve nörotransmitter maddelerde değişiklikler gösterirler, bazı klinik hastalıklarda miyelinizasyon çalışmalarında kullanılmaktadırlar (Baker ve Jackson, 2007).

#### 2.4. Kuprizon Hayvan Modelinde Patogenez

Kuprizon intoksikasyonu, oligodendrosit hasarı ve remiyelinizasyonu inceleyen çalışmalarda kullanılmaktadır (Denic ve ark., 2011). C57BL/6 farelerin bu bakır şelatörünü yemesi, MSS'de demiyelinizasyonun gelişmesine sebep olmaktadır (Schmidt ve ark., 2013).

Kapsamlı olarak çalışılan bu modelde beyindeki patolojinin, hem doğal bağışıklığın aktivasyonundan hem de hücre spesifik toksisiteden kaynaklandığı düşünülmektedir. Oligodendrositlerin ölümüne, mikroglia ve makrofaj aktivasyonu, astrogliozis ve inflamatuvar sitokinlerin artışı eşlik etmektedir (Messori ve ark., 2007; Buschmann ve ark., 2012). Bununla birlikte bu komplike *in vivo* inflamasyon ortamı, oligodendrosit hasarına hangi intrinsik yolların neden olduğunun belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Taraboletti ve ark., 2017).

Birçok çalışmada, bakırın biyolojik sistemlerdeki çok yönlü fonksiyonları gösterilmiştir. Özellikle bakırın insanda görülen bazı hastalıklarda etken olması, bakır transportunun moleküler fizyolojisi üzerine odaklanan çalışmaların önemini arttırmıştır (Iakovidis, Delimaris, ve Piperakis, 2011). Kuprizonun etkili bir bakır şelatörü olması sebebiyle, toksisitenin beyindeki bakır dengesindeki bozulma sonucunda geliştiği düşünülmektedir. Ancak kuprizon intoksikasyonu sırasında yapılan beyin bakır seviyesi ölçüm sonuçları tutarsızdır. Bir çalışmada kuprizon-Cu<sup>+2</sup> oligomerlerinin barsaklarda biriktiği ve bunun beyin dahil tüm vücutta yaygın bakır eksikliğine neden olduğu gösterilmiştir (Benetti ve ark., 2010). Kuprizonun bakıra bağlanması ile ilgili yapılan başka bir çalışmada ise bu çalışmanın aksine düşük dozda kuprizon ile uzun süre beslenmenin beyindeki bakır seviyesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (Messori ve ark., 2007). 6 haftalık kuprizon tedavisinin ardından beyindeki bakır, demir ve manganez seviyelerinin ölçüldüğü bir çalışmada sadece manganez seviyesinde azalma saptanmıştır (Moldovan ve ark., 2015). Bu

çalışmalar beyindeki bakır seviyesindeki değişimlerin oligodendrosit ölümü ile ilişkili olmayabileceğini göstermektedir.

Kuprizon uygulaması sitokrom oksidaz ve monoamin oksidazın beyindeki aktivasyonunun azalmasına da neden olmaktadır. Bakır, bakır-çinko dismutaz ve seruloplazmin dahil olmak üzere metalloenzimler için vazgeçilmez bir elementtir (Matsushima ve Morell, 2001).

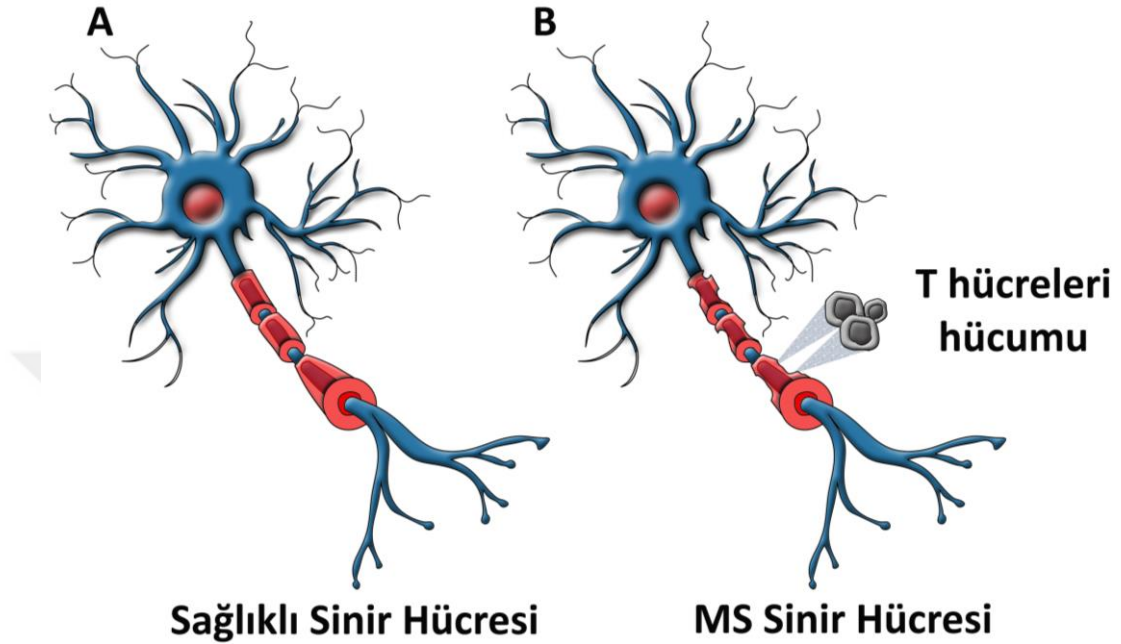
Bazı çalışmalarda kuprizon toksisitesinin monoamid oksidaz inhibisyonuna (Kesterson ve Carlton, 1971), elektron transport sisteminde dengesizliklere (Acs ve ark., 2013), bakır-çinko süperoksit dismutazda bozulmalara (Acs ve ark., 2013) neden olduğu bildirilmiştir. Bu değişiklikler oligodendrosit ölümü ile sonuçlanan mitokondriyal disfonksiyona sebep olabilmektedir (Taraboletti ve ark., 2017).

*In vitro*, oligodendrosit kültürlerinde kuprizon tedavisinde malondialdehit artışı ile lipid peroksidasyonu gözlemlenmiştir (Xu, Yang, ve Li, 2014). Oksidasyonda ve lipid sentezinde anahtar rol oynayan peroksizomlar, normalde peroksizom bağlı katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz tarafından temizlenen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin büyük bir kısmını üretmektedir. OPCs olgunlaşması sırasında peroksizomların sayıca artması, bir yandan oligodendrositlerin miyelin kılıf lipidlerini sentezlenmesini sağlarken bir yandan da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'de artışa dolayısıyla da oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır. *In vitro* oligodendrosit kültürlerinde kuprizonun CAT aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (Xu, Yang, ve Li, 2014).

Metallotioninlerin (MT) önemli anti-oksidan fonksiyonları vardır. Kuprizon tedavisini takiben astrositlerde MT ekspresyonunda artış görülürken, oligodendrositlerde az miktarlarda MT ekspresyonu görülmektedir. Bu durum oligodendrositleri oksidatif strese hassas hale getirmektedir (Biancotti, Kumar, ve de Vellis, 2008; Witherick ve ark., 2010). Bir başka çalışmada ise kuprizonun oligodendrositlerdeki toksisitesinin, aminoasit metabolizmasından sorumlu enzimlerin bozulması sonucunda reaktif oksijen radikallerinde artış ve enerji eksikliği sebebiyle olabileceği öne sürülmüştür (Taraboletti ve ark., 2017).

Sonuç olarak mevcut literatür, bakır şelatörü olan kuprizon intoksikasyonunun birçok enzimin işleyişinde değişikliğe sebep olduğunu göstermektedir. Bu değişiklikler de oligodendrositlerin son derece hassas olduğu, artmış oksidatif stres ile

sonuçlanmaktadır. Oksidatif stresin yanında kuprizon, aminoasit seviyesinde azalmayla birlikte endoplazmik retikulumda da strese ve miyelin lipid ve protein sentezinde bozulmaya neden olmaktadır. Bunun sonucunda ise miyelin kılıfı bozulma gerçekleşmektedir (Praet ve ark., 2014) (Şekil 2.6).



**Şekil 2.6.** Sağlıklı ve MS hastalığındaki sinir hücresi miyelin kılıfının şematize şekli. **A)** Sağlıklı bir sinir hücresi, **B)** MS hastalığında, sinir hücresinin miyelin kılıfında meydana gelen demiyelinizasyon gösterilmektedir.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Deney Modelinin Oluşturulması ve Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışmamızda Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde üretilen demiyelinizasyona yatkın olduğu bilinen bir tür olan C57BL/6 türü 8 haftalık 19-23 gram ağırlığında 40 adet erkek fare kullanıldı (Acs ve ark., 2009; Norkute ve ark., 2009). Fareler; oda sıcaklığı ortalama 22-24°C, bağıl nem oranı %55-60, 12 saat karanlık-12 saat aydınlık olan laboratuvar ortamında barındırıldı. Hayvanlar deney süresince *ad libitum* olarak beslendi. Çalışmamız Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından (09/11/2015 tarihinde 2015/14 sayılı karar no ile) onay alınarak yapıldı.

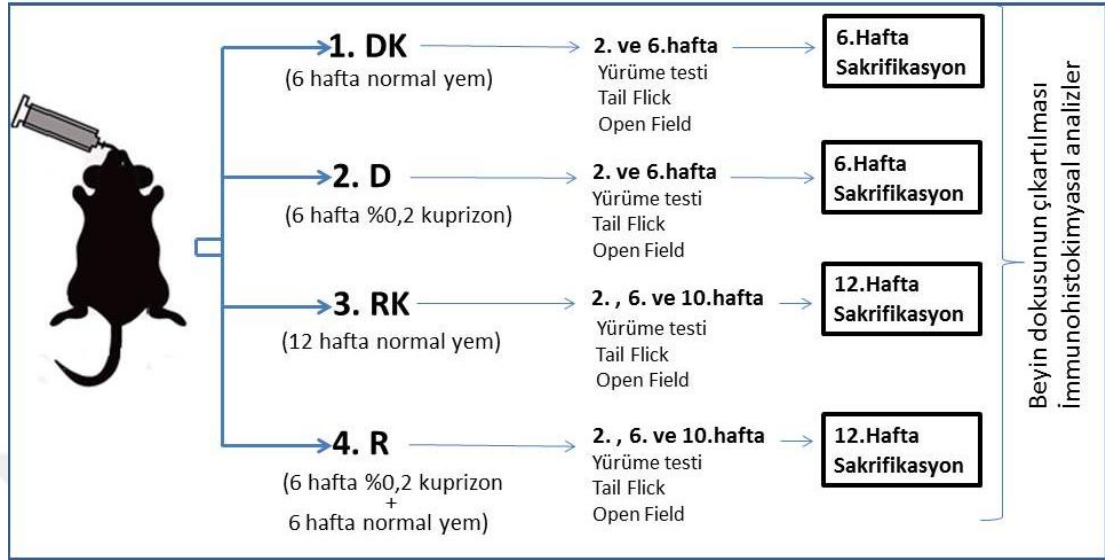
#### 3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Fareler her grupta 10 adet fare olacak şekilde randomize olarak 4 gruba ayrıldı:

1. Demiyelinizasyon kontrol (DK) grubu: 6 hafta boyunca normal yem ile beslenen ve hergün gavaj ile mısır yağı verilen grup.
  2. Demiyelinizasyon (D) grubu: 6 hafta boyunca normal yemin dışında gavaj ile %0,2 kuprizon verilen grup (kuprizon mısır yağı içerisinde hazırlanmıştır).
  3. Remiyelinizasyon kontrol (RK) grubu: 12 hafta boyunca normal yem ile beslenen ve hergün gavaj ile mısır yağı verilen grup.
  4. Remiyelinizasyon (R) grubu: 6 hafta boyunca normal yemin dışında gavaj ile %0,2 kuprizon verilen ardından 6 hafta boyunca normal yem ile beslenerek remiyelinizasyona bırakılan grup.
6. haftanın sonunda D ve DK grubu hayvanlara Biyofizik Anabilim Dalı laboratuvarlarında davranış testleri ve tail flick testi uygulandıktan sonra anestezi altında hayvanlar sakrifiye edildi. Cerrahi işlemler Deney Hayvanları Ünitesinde, steril şartlarda yapıldı. Anestezi, intraperitoneal olarak 150 mg/kg ketamin (ketamine hydrochloride, Ketalar®; EWL Eczacıbaşı Warner Lambert İstanbul-Türkiye) ve 5 mg/kg ksilazin (Rompun®, Bayer, Türkiye) karışımı kullanılarak uygulandı. Sonraki aşamada kafatası açılarak beyin izolasyonu gerçekleştirildi.

10. haftanın sonunda R grubu ve RK grubu hayvanlara davranış testleri ve tail flick testi uygulandıktan sonra 12. haftanın sonunda hayvanlar anestezi altında sakrifiye

edildi. Sonraki aşamada kafatası açılarak beyin izolasyonu gerçekleştirildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Deney modeli şematize edilmiştir. DK: Demiyelinizasyon Kontrol, D: Demiyelinizasyon, RK: Remiyelinizasyon Kontrol, R: Remiyelinizasyon şeklinde kısaltıldı.

### 3.3. Davranış Testleri

#### 3.3.1. Yürüme Testi

Çalışmamızda yürüme testinde, ayak izlerini elde etmek için arka ve ön ayaklar sırasıyla kırmızı ve mavi toksik olmayan boya ile boyandı. Daha sonra hayvanlara kapalı bir düzeneğin içine 50 cm uzunluğunda ve 4 cm genişliğinde pist boyunca yürüme için izin verildi. Her çalışma için beyaz bir kağıt yaprak, pistin tabanına yerleştirildi. Oluşan ayak izleri dijital kumpas ile ölçülerek analiz edildi. Aşağıdaki parametreler ölçüldü;

- 1) Adım uzunluğu; her bir adım arasında ileriye hareketin ortalama mesafesi,
- 2) Toe Spread (TS); 1. parmak ile 5. parmak arası uzaklık,
- 3) Intermediary Toe Spread (ITS); 2. ile 4. parmak ucu arasındaki uzaklık,
- 4) Print length (PL); topuktan 3. parmak ucuna olan uzaklık,
- 5) TOF; sağ arka topuk ile sol 3. parmak ucu arası uzaklık,
- 6) Overlap; sol veya sağ ön ayak izi / arka ayak izinin üst üste gelmesi.

Overlap, birbirini izleyen sol veya sağ ön ayak izi / arka ayak izinin üst üste gelmesi ve aralarındaki mesafeyi kuprizona maruz bırakılan deney grupları ile kontrol gruplarında değerlendirmek için kullanıldı. Arka ayak izi merkezi önceki ön ayak izi

merkezinin üstüne düştüğünde, sıfır değeri kaydedildi. Ön ve arka ayak izleri örtüşmediği zaman, ayak izlerinin merkezleri arasındaki mesafe kaydedildi. Her koşuda her bir parametre için, başlangıç ve bitiş ayak izleri hariç 3 değer kaydedildi. Bu üç değerın ortalaması sonraki analizlerde kullanıldı (Inserra, Bloch, ve Terris, 1998; Carter ve ark., 1999).

### **3.3.2. Açık Alan Testi**

Açık alan testi ile farelerin motor koordinasyonları ve lokomotor aktiviteleri değerlendirildi. Açık alan testleri duvar yüksekliği 40 cm, tabanı 50x50 cm<sup>2</sup> ebatlarında olan kare şeklinde beyaz mat tabanlı düzenekte yapıldı. Alan birbirine eşit 16 küçük daireye bölündü. Ölçüm testinin yapılacağı günden önce hayvanlar deney düzeneğinde alıştırmaya sürecinden geçirildi. Kayıtlar Noldus Etho Vision sisteminde alındı. Deneyin başlangıcında fareler tek tek bu alanın merkezine bırakıldı ve 5 dakika boyunca hareketleri dijital olarak kaydedildi. Bu süre içerisinde farelerin aldıkları yol ve hızları ölçülerek motor fonksiyonları değerlendirildi. Denekler arasında düzeneğe her defasında temizlendi (Li ve ark., 2015).

### **3.4. Tail Flick Testi**

Tail flick test düzeneğinde (katalog no TF211-01 TAIL FLICK SYSTEM for Rart's) kuyruğun hemen altında bulunan lamba ve fotosensör aracılığıyla kuyruğun distal ucunun yaklaşık 3 cm üstüne belirli bir noktaya ısı uygulandı. Farenin ağrıyı hissettiği anda kuyruğunu çekmesiyle fotosensör aracılığıyla devre kapandı. Uygulamanın başladığı andan kuyruğun ısı uygulanan noktadan çekilmesine kadar geçen süre tespit edildi. Fotosensörün etkilenmemesi için deneyler karanlık bir ortamda yapıldı. Doku hasarını en aza indirmek için düzeneğin cut-off süresi 20 saniye olarak belirlendi (Vakilzadeh ve ark., 2015).

### **3.5. Histolojik İnceleme**

#### **3.5.1. Parafine Gömme İşlemi İçin Doku Takibi**

Farelerden alınan beyin dokuları %10'luk formalin fiksatifine alınarak 24 saat fikse edildi. Fiksasyondan sonra dokular 2 saat akar suda yıkandı. Ardından, dokular sırasıyla %70, %80, %90'lık etil alkollerde 24'er saat ve %100'lük etil alkolde ise 3 saat tutularak dokulardan suyun uzaklaşması sağlandı. Ksilol içinde üç defa üçer dakika bekletilerek şeffaflaştırıldı. 56°C'ye ayarlanmış etüvde sıvı parafin serilerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı.

### **3.5.2. İmmünohistokimya Yöntemi**

Fare beyin dokusunda GFAP ve MBP ekspresyon miktarını göstermek amacıyla kullanıldı.

#### **Kullanılan Solüsyonlar**

##### **1X PBS (Phosphate Buffer Saline):**

7,2 gr Disodyum Hidrojen Fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )(#1.06585.5000; Merck)

0,8 gr Potasyum Hidrojen Fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )(#1.05101.1000; Merck)

16 gr Sodyum Klorür ( $\text{NaCl}$ )(#1.06400.1000; Merck)

Yukarıdaki kimyasallar 2 litre distile su içerisinde çözüldü ve pH'sı 2N NaOH ile pH=7,4 olacak şekilde ayarlandı.

##### **Sitrik Asit Tamponu:**

2,1 gr Sitrik asit ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) (#1.0044.1000; Merck) 900ml distile su içerisinde çözüldü ve pH'sı 2N NaOH ile pH=6,0 olacak şekilde ayarlandı.

##### **%3'lük $\text{H}_2\text{O}_2$ Solüsyonu:**

92 ml metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) (#1.06009.2500; Merck) ve 8 ml %35'lik  $\text{H}_2\text{O}_2$  (#1.07961.0100; Merck) karıştırılarak şale içerisinde hazırlandı.

##### **Bloklama Solüsyonu:**

Ultra V Block (#TA-125-UB; Thermo Scientific/LabVision)

##### **Antikor Dilüent Solüsyonu:**

Antibody Diluent Solution (#ab64211; Abcam)

##### **Primer Antikor:**

Anti-Myelin Basic Protein antibody (#ab40390, Abcam)

Anti-GFAP antibody (#ab7260, Abcam)

##### **Sekonder Antikor:**

Biotinli Anti rabbit Vector Laboratories (#BA-1000)

##### **Streptavidin Peroksidaz Kompleksi:**

Streptavidin Horseradish Peroxidase (HRP) (#85-9043; Invitrogen)

**Kromojen:**

Diaminobenzidine tabletleri (#D4168; Sigma)

**Mayer'in Hematoksileni:**

Mayer Hematoksilen (#1.09249.1000; Merck)

**Kapatma Solüsyonu:**

Entellan (#1.07961.0100; Merck)

İmmünohistokimya boyaması için 5 µm kalınlığında kesitler; Poly-L lizinle kaplı lamlar üzerine alındı ve bu kesitlerde atlastan belirlenen CC ve hippocampus alanları immunohistokimyasal analizler için ayrıldı. Ayrılan kesitler, 45<sup>0</sup>C'deki etüvde bir gece ve takiben sabahta 60<sup>0</sup>C'deki etüvde 1 saat bekletildi. Bu aşama; parafinin slaytlar iyice yapışması için gereken önemli bir adım olup, sonrasında parafini slaytların üzerinden uzaklaştırmak için 10'ar dakika 2 kez ksilolden geçirildi ve takiben 3'er dakika azalan alkol serilerinde (%100, %90, %80, %70) bekletilmesiyle deparafinize (parafinden kurtarma) olması sağlandı. Alkol serilerinden sonra kesitler 3 dakika distile su içerisinde hidrate (suya indirme) edildi. Ardından dokudaki antijenik maskelenmeyi ortadan kaldırmak amacıyla taze hazırlanmış sitrik asit (pH=6,0) tamponunda 750 W'da 7 dakika mikrodalga ışınımına maruz bırakıldı. Kesitler mikrodalga uygulaması sonrasında oda ısısında 20 dakika soğutulduktan sonra, distile su ile 5 dakika yıkandı. Daha sonra, dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solüsyonu ile oda ısısında 15 dakika bekletilerek yok edildi. Takibinde kesitler 3 kere 5'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra, özgül olmayan bağlanımları bloke etmek için bloklama solüsyonu ile oda ısısında 7 dakika bloklandı. Bu işlem sonrasında herhangi bir yıkama basamağı yapılmadan kesitler, pozitif gruplara dilüe edilmiş MBP (1:1400), GFAP (1:400) ve negatif gruplara da aynı oranda IgG içeren immunglobulinler damlatıldı. Kesitler nemli muhafaza kutularına alınarak +4<sup>0</sup>C'de gece boyu inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kesitlerdeki solüsyonlar uzaklaştırıldı. Primer antikoru test etmek için kullanılan IgG negatif kontrolümüz boyanmaları test etmemizi sağladı. Ertesi sabah 3 kez 5'er dakika PBS'de yıkanan kesitler biotin ile işaretlenmiş anti-rabbit sekonder antikorda (1/400) oda ısısında 2 saat inkübe edildikten sonra, 3 kez 5'er dakika PBS'de yıkandı. HRP-konjuge Streptavidin damlatılarak 40 dakika oda ısısında bekletildi. Yıkamanın ardından DAB (Diaminobenzidin) substratı damlatılarak enzim substrat



ilişkisi sonucunda oluşacak olan kahverengi boyanmalar gözlemlendi. GFAP için 22 saniye, MBP için 35 saniye inkübe edilerek gelişen reaksiyon mikroskop altında değerlendirildi. Ardından Mayer'in hematoksininde zıt boyama yapıldı. Örnekler daha sonra artan alkol serilerinden (%70, %80, %90, %100) geçirilerek dehidrate (sudan kurtarma) edildi, ksilolden geçirildi. Daha sonra kesitler entellan ile kapatıldı. Zeiss Axioplan ışık mikroskopunda CC ve hippocampusta GFAP ve MBP dağılımları ve immunoreaktivite dereceleri Image J programı kullanılarak değerlendirildi.

### **3.5.3. Beyin Dokularının Fotoğraflanması**

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalında yapılan immunohistokimyasal boyanmaları görüntülemek ve fotoğraflamak için Zeiss-Axioplan (Oberkochen, Germany) mikroskop kullanıldı.

### **3.5.4. Image J Analizi**

Beyin dokusundan 6 farklı hayvandan alınan örnekler immunohistokimya boyanması yapıldıktan sonra elde edilen preparatlardan rastgele olarak 8'er alanın fotoğrafları çekilerek Image J programı yardımıyla boyanmış kısımların tüm alana oranı hesaplanarak boyanma yüzdesi çıkarılmıştır.

### **3.6. İstatistiksel Analiz**

Image J programı ile hesaplanan yüzdeler istatistiksel olarak değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerleri ile sunulmuştur. Normallik varsayımı Shapiro Wilk Testi, q-q plots, çarpıklık ve basıklık değerleri (-1 ile 1 aralığında olma) kontrol edilerek incelenmiştir. İki'den fazla grubun sayısal verileri veriler normal dağılıma uymadığında Kruskal Wallis Testi, fark anlamlı çıktığı durumda ikili karşılaştırmalar Bonferroni-Dunn prosedürü ile yapılmıştır. Veriler normal dağılıma uyduğunda Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA) yapılmıştır. Anlamlı fark bulunduğu ikili karşılaştırmalar Bonferroni Testi ile yapılmıştır. Zamana bağlı ağırlıklardaki değişimi değerlendirmek için tekrarlı ölçümler varyans analizi (Repeated Measures Anova) yapılmıştır. Bonferroni metodu ile ikili karşılaştırmalar yapılmıştır. Yürüme analizinden elde edilen değerler One-way ANOVA ile analiz edilmiştir ve post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Açık alan testinin verileri One-way ANOVA ile analiz edilmiştir ve post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. D grubunun hız parametreleri kendi içinde değerlendirilirken ikili karşılaştırmada Paired T testi

kullanılmıştır. Tail flick testinin verileri Kruskal-Wallis varyans analizi ile test edilmiştir ve ikili karşılaştırmada Mann Whitney-U testi kullanılmıştır.

Analizlerde SPSS 23.0 paket programı kullanılmıştır ve  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

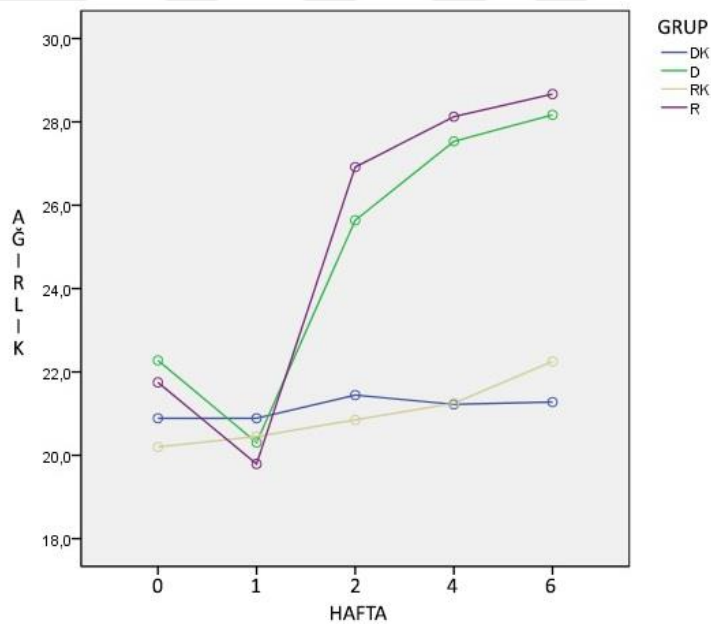


## 4. BULGULAR

### 4.1. Makroskobik Bulgular

#### 4.1.1. Vücut Ağırlığı

Vücut ağırlığı için hayvanların başlangıç değerlerine göre değişimi hesaplandı. Demiyelinizasyon grubunda 0., 1., 2., 4. ve 6. haftalardaki vücut ağırlığı ölçümlerinde en az bir ölçüm farklı bulundu ( $p<0,001$ ). İkili karşılaştırmada D grubundaki hayvanların vücut ağırlıkları 0. güne göre 1. haftanın sonunda azalmış olarak bulundu ( $p<0,001$ ). 0. gün ağırlıkları ile 2. haftadaki ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken ( $p=0,226$ ), 4. ve 6. haftalarda anlamlı bir artış ile karşılaşıldı ( $p=0,004$ ,  $p=0,001$ ). R grubunda ise ilk 6 hafta D grubu ile aynı değişiklikler görüldü. Ek olarak hayvanların vücut ağırlıkları 0. güne göre 8. haftada ve 10. haftada ağırlıkları anlamlı şekilde artmış olarak bulundu ( $p=0,002$ ,  $p<0,001$ ) (Şekil 4.1).



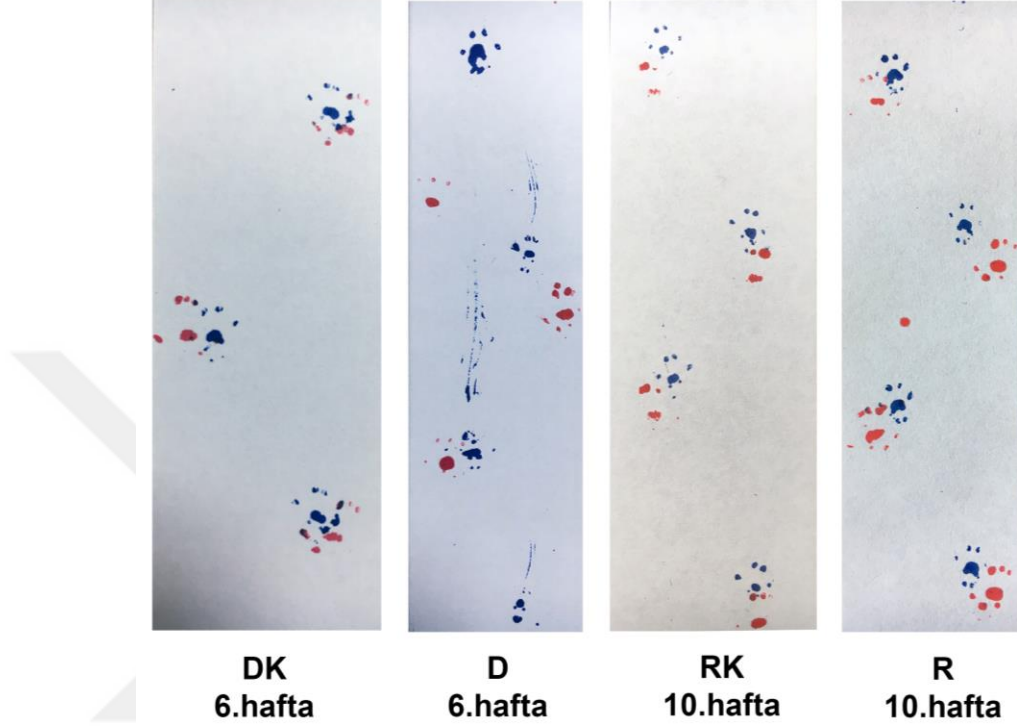
Şekil 4.1. Hayvanların vücut ağırlıklarının haftalara göre değişimi.

#### 4.1.2. Yürüme Testi

Çalışmamızda ölçülen uzaklıklar arasında TOF ve overlap (dikey) değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü.

D grubunun 6. haftasındaki TOF değerleri ile R grubunun 10. haftasındaki TOF değerleri aynı haftalardaki kontrol gruplarına göre yüksekti ( $p<0,001$ ).

Ölçülen overlap (dikey) değerlerinde, DK grubu 6. haftasında, RK grubu 10. haftasında ve R grubu 10. haftasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. D grubunun 6. haftasında ölçülen dikey overlap mesafesi diğer 3 grubun ölçümlerine göre yüksekti ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2.** Yürüme testine ait görüntüler. D grubuna ait ayak izi görüntüsünde DK, RK ve R grubuna göre overlap mesafesindeki artış ve ayağı sürtme izi görülmektedir ( $p<0,001$ ).

#### 4.1.3. Açık Alan Testi

Çalışmamızın açık alan testinde her grup kendi base-line verisine göre total distance (alınan yol) ve velocity (hız) parametrelerine bakılarak değerlendirildi.

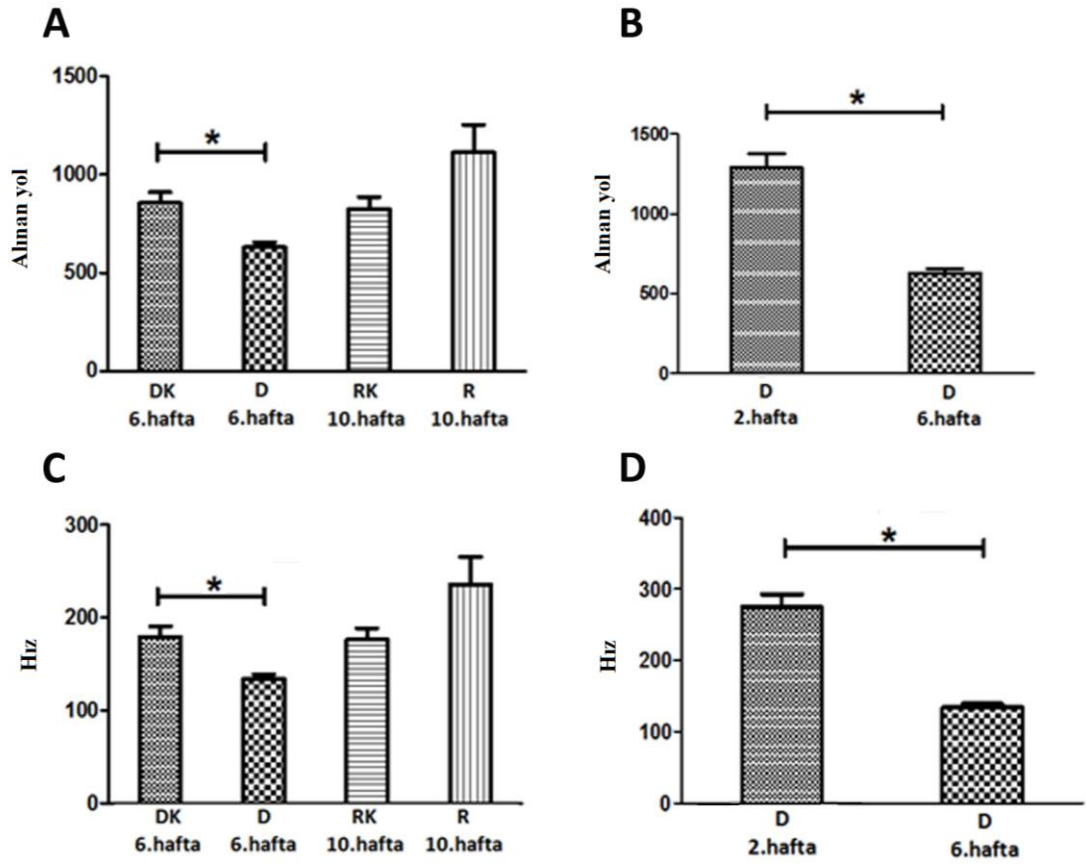
Deney gruplarında alınan yol miktarlarının değerlendirilmesi:

Kontrol gruplarının (DK grubu ile RK grubu) tekrarlayan parametreleri arasında alınan yol uzunluğu miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi.

D grubundaki hayvanların 6. haftadaki aldıkları yol miktarı, DK grubu hayvanlarının 6. haftasındaki aldıkları yol miktarına göre daha az bulundu ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.3 A). R grubundaki hayvanların 10. haftada aldıkları yol miktarı ise, D grubunun 6. haftasına göre daha fazla bulundu (Şekil 4.3 A). Ayrıca D grubunun 6. haftasında alınan yol miktarı da D grubunun 2. haftasına göre daha az bulundu ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.3 B).

Deney gruplarında hızların değerlendirilmesi:

Kontrol gruplarının tekrarlayan parametreleri arasında hızlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Fakat D grubundaki hayvanların 6. haftasındaki hızları, DK grubu hayvanlarının 6. haftasındaki hızlarına göre daha az bulundu ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.3 C). R grubundaki hayvanların 10. haftadaki hızları ise, D grubunun 6. haftasına göre daha fazla bulundu (Şekil 4.3 C). Ayrıca D grubundaki hayvanların 6. haftasındaki hızları D grubunun 2. haftasındakine göre daha az bulundu ( $p<0,01$ ) (Şekil 4.3 D).



**Şekil 4.3.** Alınan yol miktarına ve hızlarına ait grafikler. **A)** Alınan yol miktarı, D grubunun 6. haftasında kontrol grubuna göre azalmıştır ( $*p<0,01$ ), R grubunda ise alınan miktarı artmıştır ( $*p<0,01$ ). **B)** D grubunun 6. haftasında alınan yol miktarı 2. haftada alınan yol miktarına göre azalmıştır. **C)** Hızları, D grubunun 6. haftasında kontrol grubuna göre yavaşlamıştır ( $*p<0,01$ ), R grubunda ise hız artmıştır ( $*p<0,01$ ). **D)** D grubunun 6. haftasında da 2. haftasına göre hayvanların hızları azalmıştır ( $*p<0,01$ ).

#### 4.1.4. Tail Flick Testi

Kuprizon tedavisi bittikten sonra yapılan tail flick testi için, D grubunun 6. haftası ve DK grubunun 6. haftası ile R grubunun 10. haftası ve RK grubunun 10. haftasında alınan veriler analiz edilerek karşılaştırıldı.

DK grubunun 6. haftasında, RK grubu ve R grubu 10. haftasında alınan veriler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmez iken D grubunun 6. haftasındaki kuyruk çekme süresinin diğer 3 gruptan da yüksek olduğu görüldü ( $p<0,001$ ) (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1.** Tail flick testinde ortalama kuyruk çekme süreleri. D grubundaki farelerin ısıya karşılık kuyruklarını çektikleri ortalama sürenin, DK, RK ve R grubuna göre uzadığı dikkat çekmektedir (\* $p<0,001$ ).

Gruplar	N	Hafta	Ortalama (sn)	Standart hata
DK	10	6	2,5375	0,42086
D	10	6	7,2214	0,74163
RK	10	10	3,23	0,70617
R	10	10	3,4	0,7663
Total	40	10	4,4951	0,46767

#### 4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Kuprizonun meydana getirdiği hasarı farelerin beyin dokusunda görebilmek için GFAP ve MBP antikoları immunohistokimya tekniği ile işaretlendi. Beyin dokusunun atlas yardımı ile belirlenen CC ve hippocampus bölgeleri total olarak ve anatomik alt bölümlerine ayrılarak ayrı ayrı analiz edildi.

##### 4.2.1. Hippocampus'ta GFAP ve MBP Ekspresyonları

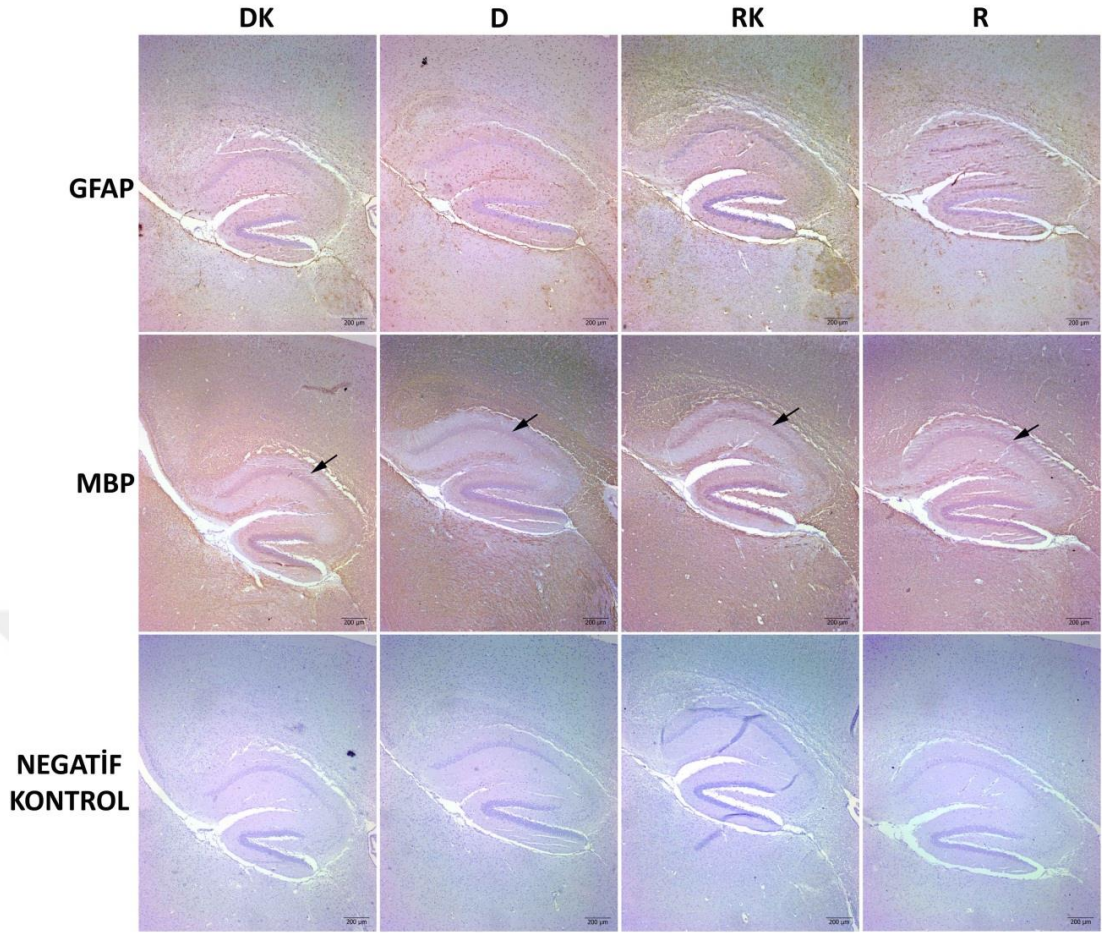
###### Total hippocampus değerlendirildiğinde;

*Total hippocampus GFAP ekspresyon miktarı;*

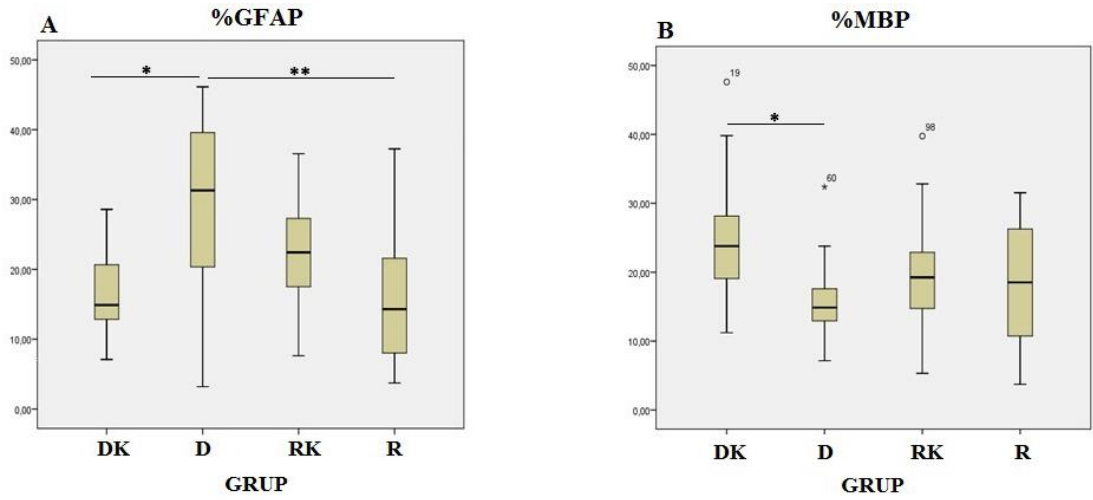
D grubunda DK grubuna göre yüksek ( $p<0,001$ ). R grubunda ise GFAP ekspresyonu D grubuna göre düşük saptandı ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5).

*Total hippocampus MBP ekspresyon miktarı;*

D grubunda DK grubuna göre MBP ekspresyonu düşük saptandı ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5).



**Şekil 4.4.** DK, D, RK ve R gruplarına ait beyin dokularında hippocampus'u gösteren GFAP'nin ve MBP'nin immunohistokimyasal ekspresyonları. Oklar: hippocampal alanı işaret etmektedir. Ölçek 200 µm.



**Şekil 4.5.** Total hippocampus'ta % GFAP ve % MBP ekspresyon miktarları. **A)** Total hippocampus'ta gruplara göre % GFAP ekspresyonu (\* $p<0,001$ , \*\* $p<0,001$ ), **B)** Hippocampus'ta gruplara göre % MBP ekspresyonu (\* $p<0,001$ ). Grafiklerde, GFAP ve MBP ekspresyonlarının total hippocampus'un tüm alanlarında image J analizi ile elde edilen boyanma paternlerinin istatistiksel olarak gruplara göre değerlendirilmesi görülmektedir.



### Hippocampus CA alanlarına göre değerlendirildiğinde;

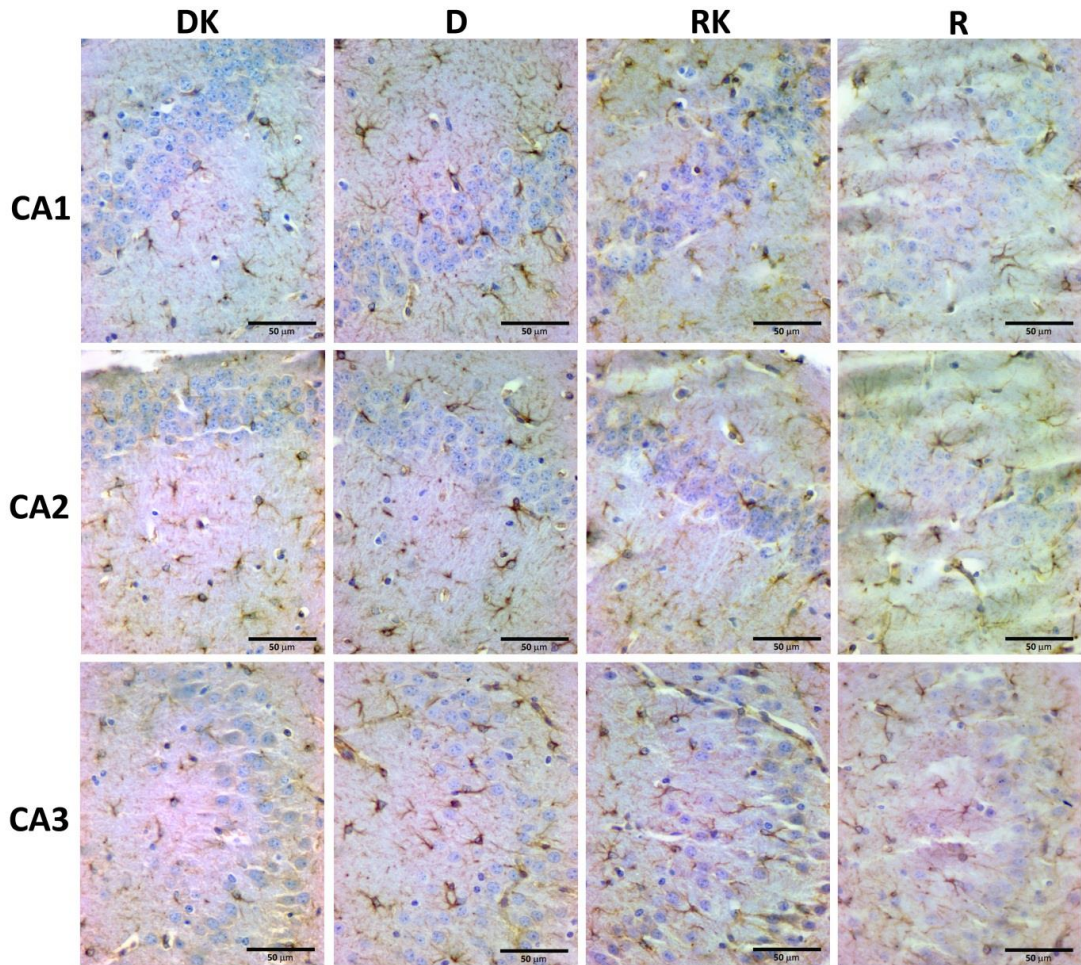
Hippocampus'un CA1, CA2 ve CA3 kısımları incelendiğinde GFAP ve MBP ekspresyon yoğunluğunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ile karşılaşıldı ( $p<0,05$ ).

#### *Hippocampus'un CA1, CA2 ve CA3 kısımlarında GFAP ekspresyonu;*

CA1'de D grubunda DK grubuna göre daha yüksek saptandı ( $p<0,001$ ). R grubunda D grubuna göre daha düşük bulundu ( $p<0,001$ ) ve RK ile R arasında bir fark görülmedi.

CA2'de 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ( $p=0,25$ ).

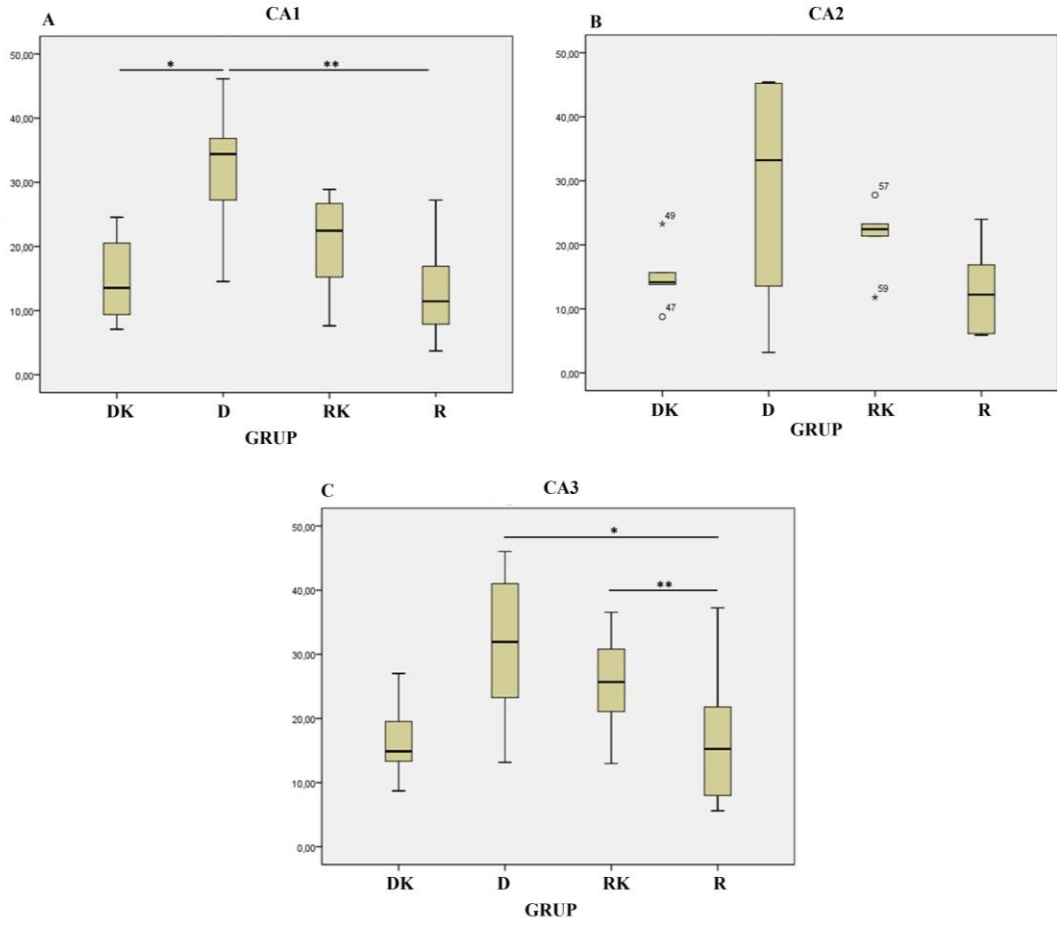
CA3'de D grubunda DK grubuna göre daha yüksek saptandı ( $p<0,001$ ). R grubunda D grubuna göre daha düşükken ( $p=0,001$ ) ve RK grubuna göre daha yüksek bulundu ( $p=0,033$ ) (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7).



Şekil 4.6. Hippocampus'un CA alanlarında GFAP immunreaksiyonları görülmektedir. Ölçek 50 µm.



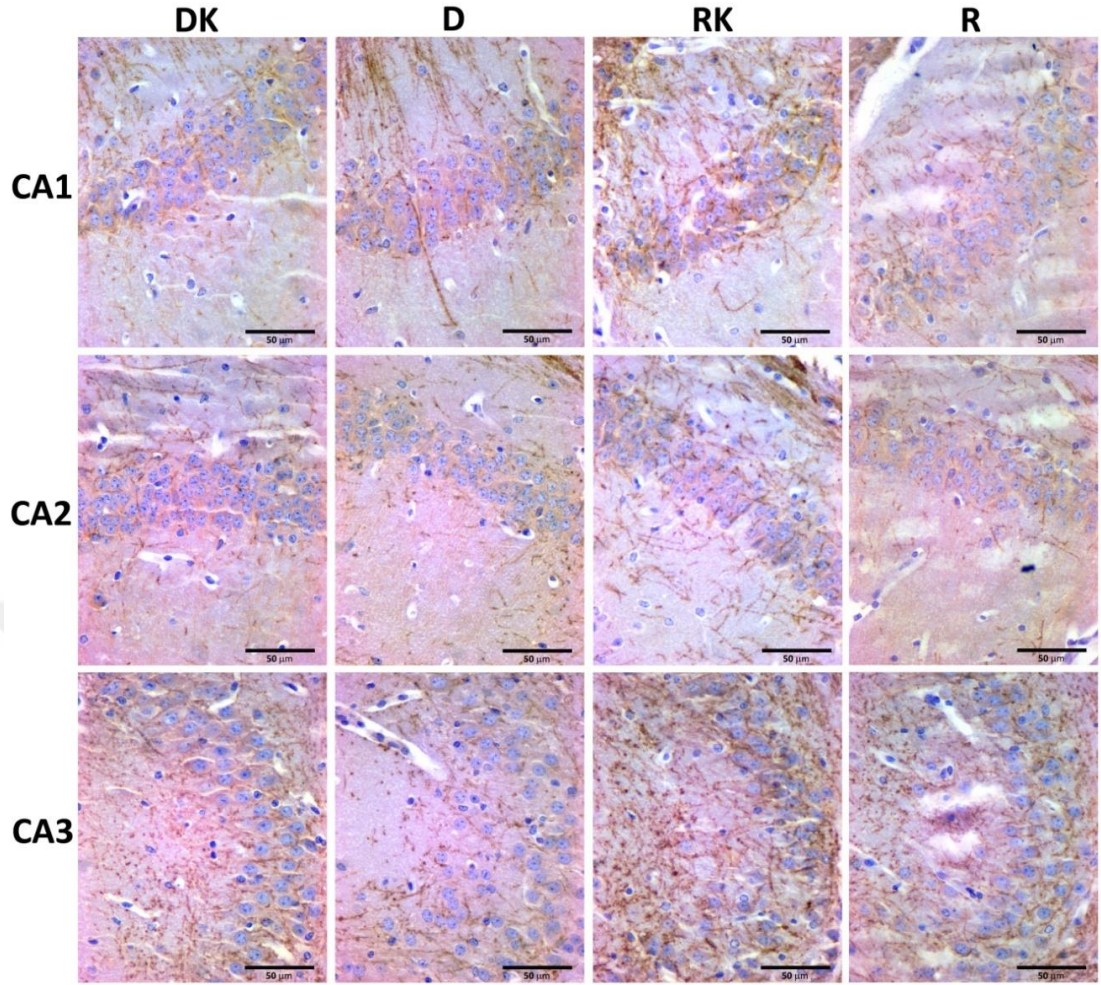
### CA alanlarında GFAP ekspresyonu



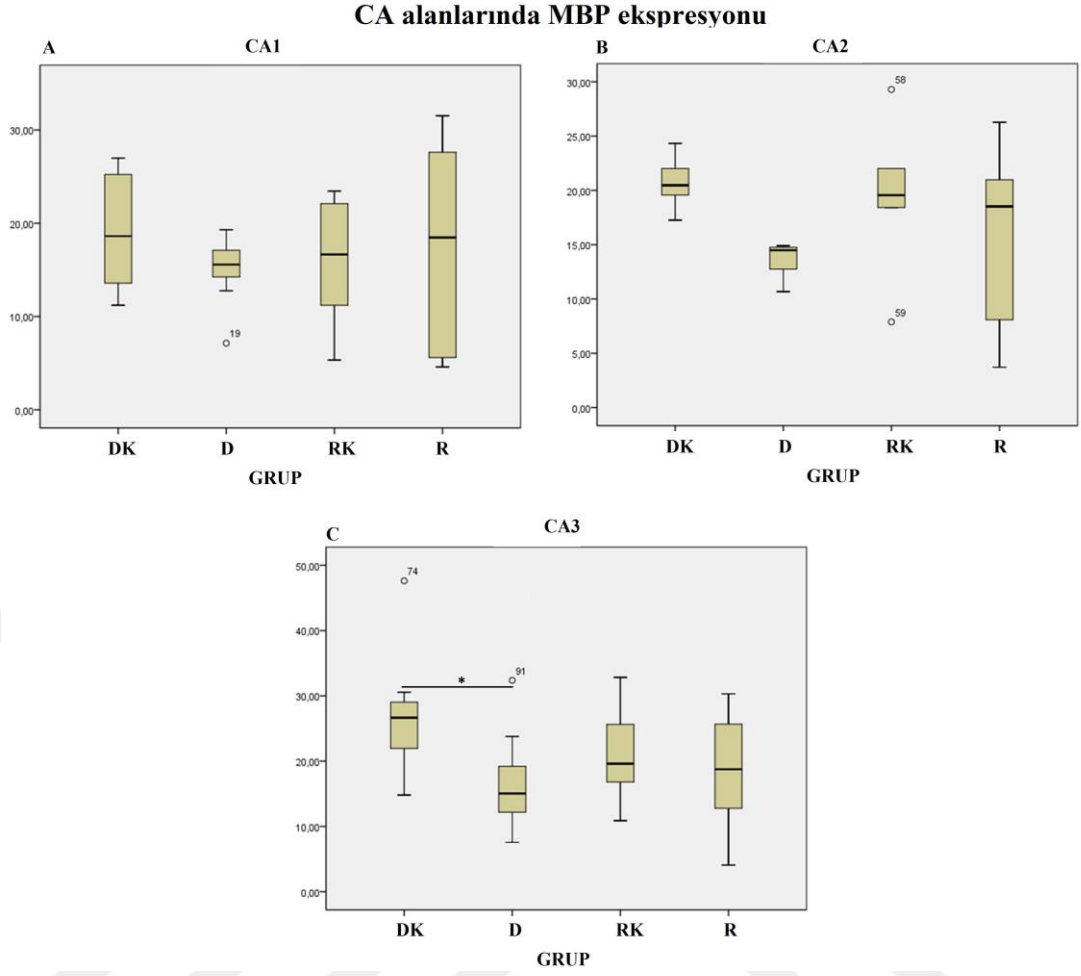
**Şekil 4.7.** Hippocampus CA alanlarında % GFAP ekspresyonu. **A)** CA1 alanında (\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,001$ ), **B)** CA2 alanında ( $p = 0,25$ ), **C)** CA3 alanında (\* $p = 0,001$ , \*\* $p = 0,033$ ) gruplara göre GFAP ekspresyonunun image-J analizi sonucunda istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

*Hippocampus'un CA1, CA2 ve CA3 kısımlarında MBP ekspresyonu;*

CA1 ve CA2 alanlarında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken (sırasıyla  $p = 0,667$ ,  $p = 0,091$ ), CA3'de D grubunda DK grubuna göre ekspresyon miktarı daha az saptandı ( $p = 0,001$ ) (Şekil 4.8 ve Şekil 4.9).



**Şekil 4.8.** Hippocampus'un CA alanlarında MBP immunreaksiyonu. Kontrol gruplarındaki reaksiyon şiddeti demiyelinizasyon ve remiyelinizasyon gruplarına göre daha yoğun görünmektedir. Ölçek 50 µm.



**Şekil 4.9.** Hippocampus CA alanlarında % MBP ekspresyon miktarları. **A)** CA1 alanında ( $p=0,667$ ), **B)** CA2 alanında ( $p=0,091$ ), **C)** CA3 alanında ( $*p=0,001$ ) MBP ekspresyonunun gruplara göre ekspresyon dağılımı görülmektedir.

#### 4.2.2. CC'da GFAP ve MBP Ekspresyonları

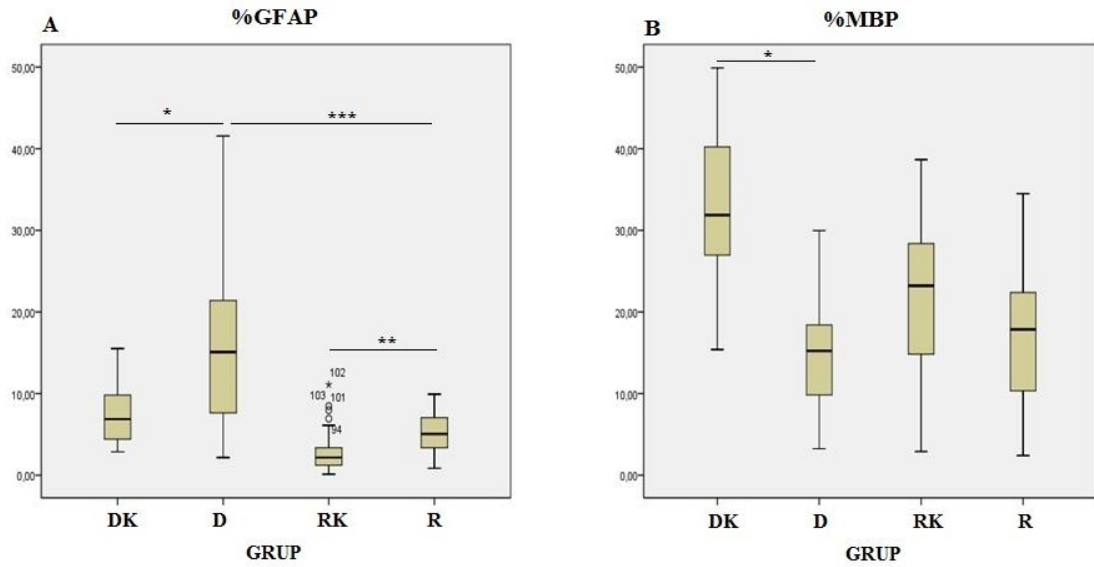
CC'da GFAP ve MBP ekspresyonları total olarak ve splenium, trunkus, genu kısımlarına ayrılarak değerlendirildi.

*Total CC'da GFAP ekspresyon miktarı:*

D grubunda DK grubuna göre ( $p=0,017$ ) ve R grubunda RK grubuna göre ( $p<0,001$ ) yüksek saptandı. Ayrıca R grubunda D grubuna göre ekspresyon miktarı düşük bulundu ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.10 A).

*Total CC'da MBP ekspresyon miktarı:*

D grubunda DK grubuna göre düşük saptandı ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.10 B).



**Şekil 4.10.** Total CC'da % GFAP ve % MBP ekspresyon miktarları. **A)** % GFAP ekspresyonunun gösterilmesi (\* $p<0,017$ , \*\* $p<0,001$ , \*\*\* $p<0,001$ ), **B)** MBP ekspresyonunun gösterilmesi (\* $p<0,001$ ).

### **CC splenium, trunkus ve genu kısımlarına göre değerlendirildiğinde;**

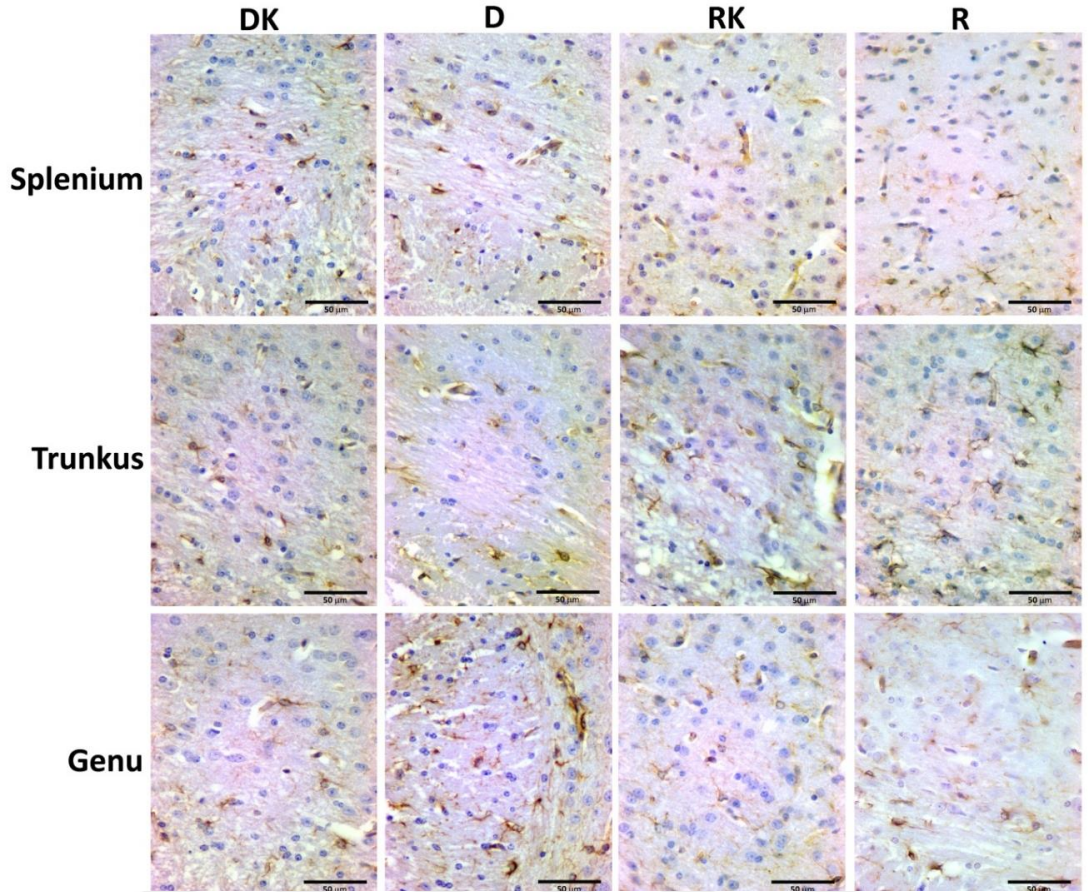
*GFAP ekspresyon miktarı,*

Splenium'da, D grubunda R grubuna göre yüksek saptandı ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.11 ve Şekil 4.12).

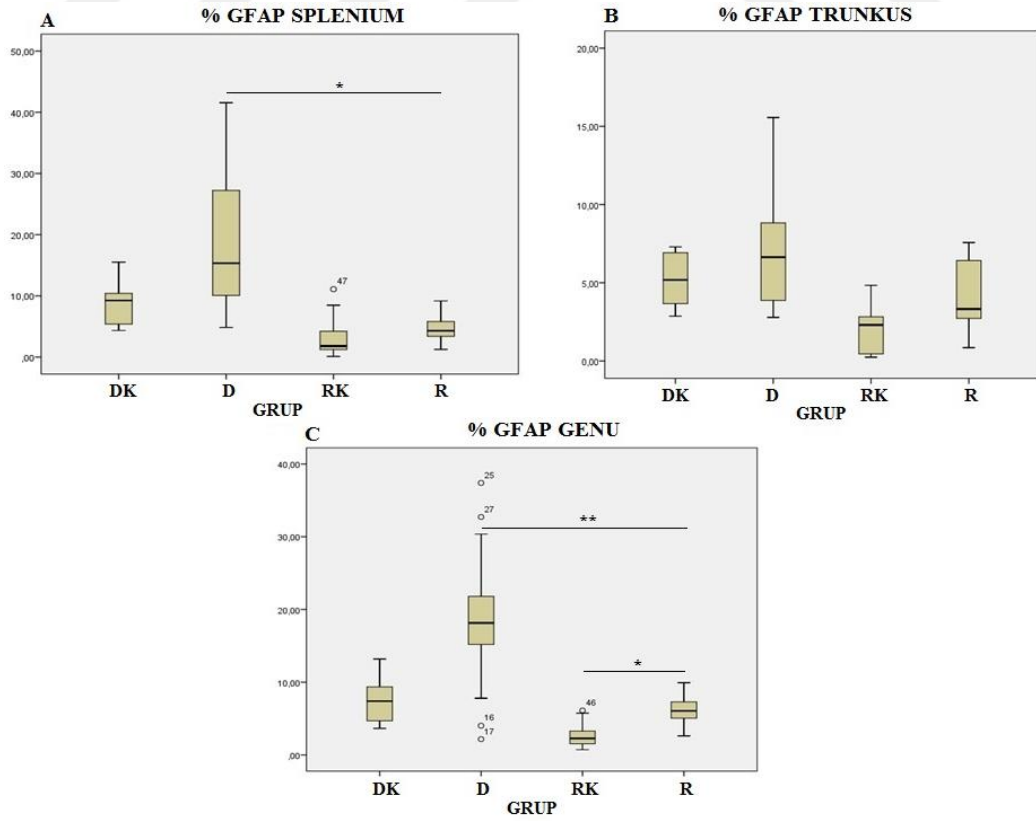
Trunkus'ta, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.11 ve Şekil 4.12).

Genu'da ise R grubunda RK grubuna göre yüksek bulundu ( $p=0,006$ ) ve R grubunda D grubuna göre düşük saptandı ( $p=0,003$ ) (Şekil 4.11 ve Şekil 4.12).





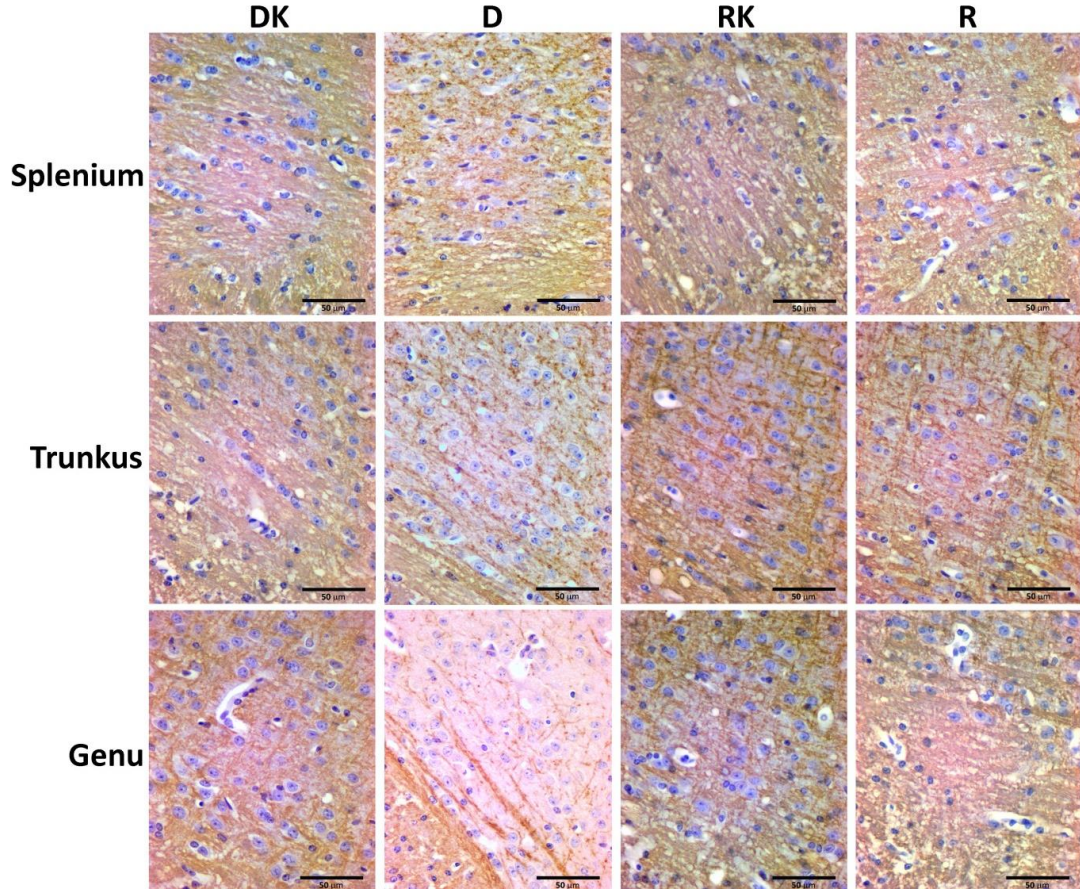
Şekil 4.11. CC'un splenium, trunkus ve genu alanlarında GFAP immunreaksiyonu. Ölçek 50 µm.



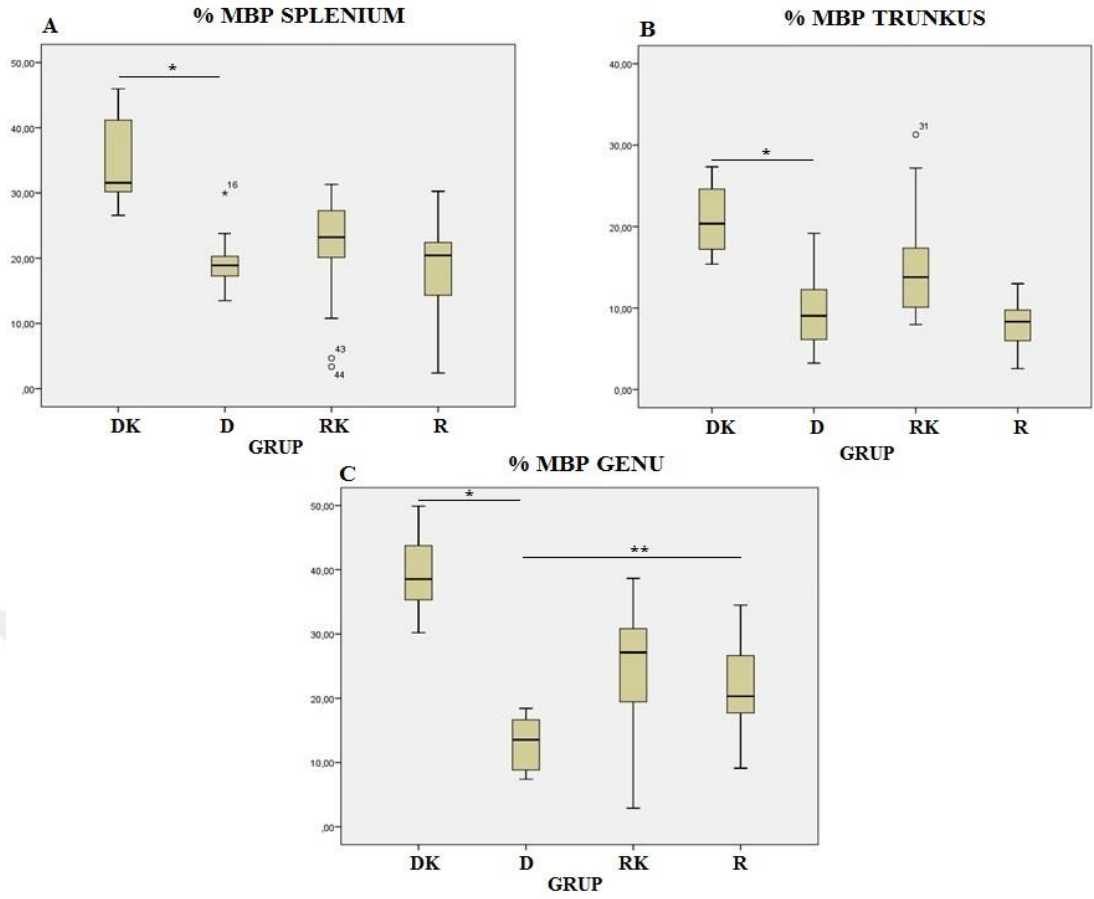
Şekil 4.12. CC'un splenium, trunkus ve genu alanlarında gruplararası % GFAP ekspresyon dağılımı. A) Splenium'da (\*p<0,001), B) Trunkus'ta, C) Genu'da (\*p=0,006, \*\*p=0,003).

*MBP ekspresyon miktarı:*

Splenium, trunkus ve genu kısmında D grubunda DK grubuna göre daha az saptandı ( $p<0,001$ ). Ayrıca genu'da R grubunda D grubuna göre daha yüksek bulundu ( $p=0,042$ ) (Şekil 4.13 ve Şekil 4.14).



Şekil 4.13. CC'un splenium, trunkus ve genu alanlarında MBP immunreaksiyonu. Ölçek 50 µm.



**Şekil 4.14.** CC'un splenium, trunkus ve genu alanlarında gruplararası % MBP ekspresyon dağılımı. A) Splenium (\* $p < 0,001$ ), B) Trunkus (\* $p < 0,001$ ), C) Genu (\* $p < 0,001$ , \*\*  $p = 0,042$ ) alanlarına ait ekspresyona bağlı istatistiksel analizlerdir. CC'un splenium, trunkus ve genu alanlarında demiyelinizasyona bağlı MBP ekspresyon miktarındaki azalış dikkati çekmektedir.

## 5. TARTIŞMA

MS, dünya çapında 2 milyondan fazla insanı etkileyen kronik nöroinflamatuvar bir hastalıktır (Alvarez-Sanchez ve ark., 2017). Bu hastalığın patogenezini aydınlatılabilmek için birkaç farklı hayvan modeli tanımlanmıştır (Kipp ve ark., 2009). Bu modellerden otoimmün kaynaklı MS’i en iyi yansıtan EAE modeli olup nöroinflamasyonu net olarak yansıtan demiyelinizasyon süreçlerinin incelenebildiği bir modeldir (Procaccini ve ark., 2015). Ancak, EAE modelinin patogenezinde ortaya çıkan farklar ve demiyelinizasyonda lezyonların yerleşiminin belirlenememesi bu modelin kullanımını sınırlandırmaktadır (Gudi ve ark., 2014). Ayrıca bu model MS progresyonu hakkında çok az bilgi sağlarken; lezyonların lokalizasyonu ve ortaya çıkış zamanı değişkenlik gösterdiği için remiyelinizasyonun çalışılması da zorlaşmaktadır (Procaccini ve ark., 2015). Temelde EAE, omuriliğin beyaz cevherini etkileyen bir hastalık iken MS, cerebellar cortex ve cerebrum’un belirgin demiyelinizasyonu ile karakterizedir. Literatürde de sınırlı sayıda çalışma EAE’de cortex’in demiyelinizasyonuna işaret etmektedir (Procaccini ve ark., 2015). Remiyelinizasyonun çalışılması, ilerleyici MS’in tedavisi ve engellenebilmesinde büyük önem taşımaktadır. EAE’de de bu mekanizmanın sınırlanması, araştırmaları daha ileri boyutlara taşıyamamaktadır (Ransohoff, 2012; Mashayekhi ve Salehi, 2016; Tejedor ve ark., 2017).

Viral modeller, MS’deki inflamatuvar demiyelinizasyonun ana özelliklerini yansıtabilmektedir. Ancak, virus modellerinin en büyük dezavantajları, doğrudan virüs kaynaklı etkilerinin olması, anti viral bağışıklık ve ek otoimmün basamakları içeren kompleks mekanizmaların varlığıdır. Ayrıca, MS patogenezinde virüslerin rolünü göstermek, indirekt ve kısıtlıdır. Bugüne kadar MS için spesifik bir virüs enfeksiyonu da tanımlanmamıştır (Lassmann ve Bradl, 2017). TMEV modelinde demiyelinizasyonun mekanizması hakkında kesin bir fikir birliği yoktur (Denic ve ark., 2011). Viral modellerde, EAE modelinde de olduğu gibi demiyelinizasyon ve remiyelinizasyonun aynı zamanda meydana gelmesi sebebiyle remiyelinizasyonun değerlendirilmesi de oldukça zordur (Gudi ve ark., 2014).



Genetik modeller miyelinizasyon ve aksonal iletimdeki fonksiyon bozukluğunu araştırmak için kullanışlıdır. Ancak, remiyelinizasyonu araştırmak için uygun değildir (Gudi ve ark., 2014).

Toksik modeller ise, hem demiyelinizasyon hem de remiyelinizasyon mekanizmalarını çözmek için oldukça kullanışlıdır (Lassmann ve Bradl, 2017). Bu nedenle, toksik ajan olarak kuprizonun kullanılmasıyla oluşturulan modellerde tutarlı, anatomik olarak tekrarlanabilir bir demiyelinizasyon ve spontan remiyelinizasyon sağlanmaktadır. MS dahil birçok demiyelinizasyonla ilişkili hastalığın araştırılmasında da bu nedenle tercih edilmektedir (Skrípuletz ve ark., 2011; Praet ve ark., 2014; Tagge ve ark., 2016). Çalışmamız, MS'in en önemli bulgusu olan demiyelinizasyon ve bunun perifere yansıtacağı yanıtların değerlendirilmesi temeline dayanmaktadır. Toksik ajan olarak tercih edilen kuprizon ile fare modelinin oluşturulmasının ardından hem perifer, hem de MSS'deki yanıtları görebilmek amacıyla dizayn edilmiştir.

Kuprizon ile oluşturulan tüm MS modeli çalışmalarında; kuprizonlu yemlerin her gün taze olarak hazırlanıp hayvana verilmesi söz konusudur. Ancak, 2013 yılında Başoğlu ve arkadaşları (Basoglu, Boylu, ve Kose, 2013) ile 2017 yılında Zhen ve arkadaşlarının (Zhen ve ark., 2017) yaptıkları çalışmalarda kuprizonun gavaj ile hayvana verilmesinde, hazırlama sırasında inhalasyona bağlı toksisitenin de ortadan kalktığı gösterilmiştir. Zhen ve arkadaşları çalışmalarında kuprizonun gavaj yoluyla verilmesinin çok daha avantajlı bir model olduğunu vurgulamaktadırlar. Bu alternatif modelin avantajlarını, kuprizon tüketiminin kontrollü ve eşit oranda toksik ajana maruz kalınmasına bağlamışlardır. Bu uygulamanın, hayvanlardaki demiyelinizasyon farkını en aza indirdiği, dolayısıyla da farmakolojik değerlendirmeler için tutarlı bir model oluşturduğu söylenmektedir (Zhen ve ark., 2017). Kuprizon inhalasyonu potansiyel olarak insanlar için de toksiktir (Hochstrasser ve ark., 2017). Bu nedenle alternatif metotlar geliştirilerek önceden kuprizonlu olarak hazırlanmış pelet yemler (Soundarapandian ve ark., 2011), ya da suya karıştırılmış kuprizon (Zatta ve ark., 2005) ile denenmiştir.

Kuprizonun farklı uygulanmasına bağlı olarak, demiyelinizasyon miktarlarında da farklılıklar görülebilmektedir. Öğütölmüş yeme karıştırılarak verilen kuprizon CC'da neredeyse tama yakın demiyelinizasyona ve ciddi mikrogliozise sebep olurken,

kuprizon pelet yeme karıştırılarak verildiğinde CC'da demiyelinizasyon açıkça tamamlanmamakta ve daha az mikrogliozis görülmektedir (Hochstrasser ve ark., 2017). Pelet yemlerin içerisinde bakır bulunmasının kuprizonu inaktive ederek daha az demiyelinizasyona sebep olabileceği ve bunu önlemek için de çalışma sırasında kuprizonun taze olarak hazırlanmasının önemi vurgulanmıştır (Hochstrasser ve ark., 2017). Ayrıca, kuprizonun distile suya karıştırılarak verilmesi kuprizonun su içerisinde düşük çözünmeye sahip olması sebebiyle tam demiyelinizasyon için uygulama süresini 9 aya kadar uzatabilmektedir (Zatta ve ark., 2005). Tüm bu olası sorunlar dikkate alındığında, çalışmamızda mısır yağında çözülen kuprizonun gavaj yoluyla her hayvana eşit dozda verilmesi planlanmıştır.

Literatürde kuprizonun dozu ile ilgili çalışmalar yer almaktadır. Yapılan bu dozaj çalışmalarında %0,1 dozda 6 haftaya kadar demiyelinizasyonun tamamlanmadığı, fakat %0,2 veya daha yüksek dozlarda kuprizon uygulanmasının 6 hafta sonra belirgin demiyelinizasyon yarattığı görülmüştür (Hiremath ve ark., 1998). Aynı çalışmada miyelini işaretleyen bir antikör ile lifler boyanarak kontrol gruplarının hasarsız olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak, %0,2 ve %0,3 dozlarında kuprizona maruz bırakılan farelerde aynı antikör ile yapılan immunohistokimyasal boyanmalarda miyelin kaybının az ve dağınık bir şekilde olduğu gösterilmiştir. %0,4, %0,5 ve %0,6 dozda kuprizon verilen farelerde ise CC'da demiyelinizasyon oluşmasına rağmen beraberinde karaciğer toksisitesi de saptanmıştır. Kuprizonun karaciğer toksisitesi oluşturmadan demiyelinizasyonu meydana getirdiğinden C57BL/6 türü farelerin tolere ettiği maksimum dozun %0,2 ile %0,3 olduğu görülmüştür (Hiremath ve ark., 1998). Bu nedenle çalışmamızda %0,2 kuprizonu uyguladık. Steelman ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 5 hafta boyunca %0,2 dozda yeme karıştırarak kuprizon verdikleri farelerde intoksikasyona bağlı olarak ilk 1 hafta da ağırlıklarının %10 oranında düştüğü, takip eden 4 haftada da aşamalı olarak arttığı görülmüştür (Steeleman, Thompson, ve Li, 2012). Franco-Pons ve arkadaşlarının çalışmalarında ise, kuprizon verilen hayvanlarda ilk 1 haftadan sonra %3,6 oranında ağırlık kaybı görülürken kontrol grubunda %3 oranında ağırlık artışı ile karşılaşmıştır (Franco-Pons ve ark., 2007).

Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak demiyelinizasyon grubundaki farelerin ağırlıklarında 1. haftanın sonunda anlamlı bir azalış görülürken sonraki haftalarda düzenli bir artış saptanmıştır.

Birçok çalışmada kuprizon modelinde, demiyelinizasyonun direk sonucu olduğuna inanılan anormal davranışların ve bilişsel bozuklukların da görüldüğü belirtilmektedir (Skripuletz ve ark., 2008; Taylor, Gilmore, ve Matsushima, 2009; Taylor ve ark., 2010; Wang ve ark., 2013). Çalışmalarda davranışsal bozuklukları değerlendirmek için açık alan, tail flick gibi testler kullanılmaktadır (Li ve ark., 2015; Vakilzadeh ve ark., 2015; Vakilzadeh ve ark., 2016). Açık alan testi uygulanan bir çalışmada alınan total yol miktarı kuprizon grubundaki hayvanlarda, kontrol grubuna yakın olarak bulunmuştur. Vakilzadeh ve arkadaşlarının 2014 yılında (Vakilzadeh ve ark., 2015) ve 2015 yılında (Vakilzadeh ve ark., 2016) yapmış oldukları çalışmalarında, açık alan testinde alınan yol miktarı ve hızın kuprizon verilen deney grubunda kontrol grubuna göre azalması dikkat çekici olup, bizim sonuçlarımızda bu literatürle uyumlu bulunmuştur. Motor bozukluğunun karakterize edildiği bir çalışmada yapılan yürüme testinde, hayvanların yaşları ilerledikçe overlap mesafesinin arttığını göstermişlerdir (Carter ve ark., 1999). Çalışmamızda da demiyelinizasyon grubunun overlap mesafesinin uzunluğunun, kontrol grubuna göre artmış olarak bulunması oluşturulan demiyelinizasyonun yürüyüş bozukluğuna sebep olabileceğini düşündürmüştür. Tail-flick testi uygulanan bir çalışmada ise, kuprizon verilen grubun nosiseptif yanıtlarında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Motor fonksiyon bozukluk oluşmasına rağmen, EAE modelinde nöropatik ağrının davranışsal belirtileri gözlenmemiştir (Vakilzadeh ve ark., 2015). Literatürden farklı olarak çalışmamızda, demiyelinizasyon grubunda kuyruk çekme süresindeki gecikme, iki modelin mekanizmaları arasındaki farklılıktan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Karşılaşılan bu farkın mekanizmasını anlayabilmek için periferik sinirlerin de histolojik olarak incelenmesinin, bu konunun aydınlatılmasına katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

Literatürde yer aldığı gibi, kuprizon uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla CC'da yoğun bir miyelin kaybı immunohistokimya yöntemiyle ekspresyonu değerlendirilen antikolar aracılığıyla gösterilebilmektedir (Partridge ve ark., 2016). Çalışmamızda da literatür ile uyumlu bir şekilde CC'da belirgin bir demiyelinizasyon

görülmüş ve bu da immunohistokimyasal olarak MBP'nin ekspresyonunun değerlendirilmesiyle yorumlanmıştır.

Kemirgenlerde hippocampus, gyrus dentatus ve lateral hippocampus dahil farklı bölgelerden oluşmaktadır ve CA1, CA2 ve CA3 olmak üzere 3 alana bölünmüştür (Norkute ve ark., 2009). Geurts ve arkadaşları (2007) MS hastalarında mikrogliya ve makrofajların invazyonu ve aktivasyonu ile paralel olarak hippocampus'ta yaygın demiyelinizasyon ve bununla korele kognitif düşüş görüldüğünü bildirmişlerdir (Geurts ve ark., 2007). Bizim çalışmamızda hippocampusta GFAP ekspresyon miktarındaki artışa ek olarak, MBP ekspresyon miktarındaki azalışın gösterilmesi de kuprizonun yarattığı hasarı kanıtlamaktadır. SPMS sürecinde diffüz beyaz cevher hasarına ek olarak gri cevherde görülen doku hasarı da hastalık sürecinin önemli bileşenlerinden biridir. Son yıllarda MS'te gri cevher hasarını araştıran çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Normal görünümlü beyaz cevherli MS'te olduğu gibi, gri cevher hasarına; hem cortex hem de hippocampus ve thalamus gibi subkortikal alanlar yaygın bir şekilde dahil olabilmektedir (Kipp ve ark., 2017).

Dutta ve arkadaşları MS hastalarında olası hafıza bozukluğu mekanizmalarını araştırmak için yaptıkları bir çalışmada, postmortem MS'li beyin dokularından aldıkları kesitlerde demiyelinize hippocampus'ta ve miyelin kaybına bağlı morfolojik değişikliklere ilaveten moleküler kaynakları da incelemişlerdir. Demiyelinize hippocampus'un CA1 ve CA2/3 bölgelerinde önemli nöronal kayıp meydana geldiği gözlemlenmesine rağmen, bu çalışmada demiyelinizasyona uğramış CA1, CA3 bölgelerindeki bu farkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (Dutta ve ark., 2011).

MS'teki hippocampal demiyelinizasyonu sistematik olarak değerlendiren ilk çalışmayı Geurts ve arkadaşları yapmıştır. Bu çalışmada, CA1 ve gyrus dentatus'un moleküler tabakası lezyonlardan etkilenirken, gyrus dentatus'un hilusu ve CA2 alanları tüm MS vakalarında tutarlı bir şekilde korunmuştur (Geurts ve ark., 2007). Bizim çalışmamızda da, Geurts ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde hippocampus'un CA2 alanının, demiyelinizasyondan korunduğu görülmektedir. Ayrıca, CA1 ve CA3'te demiyelinizasyona bağlı olarak ortaya çıkan hasar sebebiyle GFAP'nin ekspresyon miktarının artışı ve MBP ekspresyon miktarının azalışı da sonuçlarımızı tutarlı kılmaktadır.

Norkute ve arkadaşları, çalışmalarında farklı yaşlardaki farelerde kuprizon ile demiyelinizasyon oluşturarak hippocampus alanlarını incelemişlerdir. 8 haftalık farelere %0,2 kuprizon vererek oluşturdukları modelde medial ve lateral alveus'u, fimbria'ı ve commissura hippocampi dorsalis'i (DHC) araştırmışlar ve literatürle benzer şekilde CA2/3 ve gyrus dentatus'un hilus bölgelerinde miyelinizasyona bağlı bir kayıp (%80) olduğunu belirtmişlerdir (Norkute ve ark., 2009). Norkute ve arkadaşlarının çalışmalarında kullandıkları dozla aynı oranda ancak gavaj yoluyla uyguladığımız kuprizon modelinde; hippocampusun CA1 alanında miyelin kaybı açısından kontrol gruplarıyla fark olmaması ve CA3 alanında deney grubunda ciddi bir miyelin kaybının görülmesi bulgularımızı bu çalışmayla uyumlu kılmaktadır.

Sun ve arkadaşlarının yaptığı kuprizon ile oluşturulan modelde, hippocampal cortex'te MBP, CNPase ve PLP gibi miyelinle ilişkili proteinler değerlendirilmiş ve kontrol grubuna kıyasla MBP ekspresyonunun hippocampusta önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir. Benzer şekilde, CNPase ve PLP dahil diğer miyelin ilişkili proteinlerin ekspresyonunda az miktarda kaybın ifade edilmesi dikkati çekmektedir. Immüno Floresan boyamalarda CA1, CA3 ve gyrus dentatus dahil hipokampal korteks'in alt bölgelerindeki MBP ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır (Sun ve ark., 2016). Bu çalışma da hippocampus'un CA3 alanında MBP ekspresyonunun azalması bakımından bizim çalışmamız ile uyumlu olup tek fark çalışmamızda CA1 alanında MBP ekspresyonunda gruplar arasında anlamlı bir değişimin olmamasıdır.

Franco-Pons ve arkadaşları çalışmalarında CC'da miyelin kaybını LFB boyama ve MBP antikoruyla işaretleyerek göstermişlerdir. Her ikisinin de sonucunda birbiriyle uyumlu olarak demiyelinizasyon, kuprizonun 5-6 hafta boyunca verildiği grupta 4 hafta maruz bırakılanlara göre daha belirgin şekildedir (Franco-Pons ve ark., 2007). Bu yöntemlerin her ikisi de daha önce literatürde gösterildiği gibi demiyelinizasyonu ve spontan remiyelinizasyon sürecini göstermektedir (Matsushima ve Morell, 2001; Armstrong ve ark., 2002). Bizim çalışmamızda da CC'da demiyelinizasyon ve devamında gerçekleşen remiyelinizasyon hem davranış testlerine hem de immunohistokimyasal olarak değerlendirilen ekspresyon analizlerine yansımıştır.

Norkute ve arkadaşları 5 hafta boyunca kuprizon uygulanmasının 3 haftaya kıyasla daha ciddi sonuçlar doğuracağını ve bunun da MBP ve PLP ekspresyon oranlarına yansıtıldığını göstermişlerdir. Benzer şekilde, 5 ile 7 haftalık uygulama sonrasında da

GFAP ekspresyonunun CC ve cortex'te maksimum değere ulaştığı dikkati çekmiştir (Norkute ve ark., 2009). Çalışmamızda 6 hafta boyunca gavaj yoluyla uyguladığımız kuprizonun, hayvanların CC'unda GFAP ekspresyonunda artışa ve MBP ekspresyonundaki azalışa sebep olması da literatür ile uyumludur.

Goldberg ve arkadaşlarının çalışmasında CC'un orta hattı ya da globus pallidus gibi mikrogliozisin yüksek olduğu bölgelerde çok şiddetli astrositozis ile karşılaşmışlardır. Kuprizon intoksikasyonundan etkilendiği bilinen CC'un medial ve lateral kısmı, putamenin caudal bölümünün lateral kısmı, löko-kortikal sınırdaki cortex'in derin tabakalarında şiddetli mikrogliozis görülmüştür (Matsushima ve Morell, 2001). Bizim çalışmamızda da, CC'un splenium ve genu bölgesinde astrositozis nedeniyle GFAP ekspresyon miktarı kuprizon verilen grupta artmıştır.

Steelman ve arkadaşları çalışmalarında demiyelinizasyona ek olarak remiyelinizasyonu da incelemişlerdir. Kuprizon verilen grupta, oil red-O boyanması ve MBP ekspresyonundaki azalma demiyelinizasyon bölgelerindeki dirençli mikrogliozis ile uyumlu bulunmuştur. CC'un trunkus bölgesinde demiyelinizasyon ve gliozis derecelerinin daha az olduğu belirlenmiştir. CC'un rostral kısmında minor değişiklikler gözlenirken; genu bölgesinin yüzeyel parçasında ise yaklaşık olarak hayvanların %80'inde (4/5) orta hatta büyük ölçüde demiyelinizasyonun varlığı dikkat çekicidir (Steelman, Thompson, ve Li, 2012). Çalışmamızda da, CC'un isthmus, splenium ve comissura dorsalis hippocampi'yi içeren caudal kısmında miyelin kaybı gözlenmiştir. Kuprizonun uygulanmasının bırakılmasını takiben 2 haftalık sürecin sonunda da kısmen remiyelinizasyonun gerçekleştiği görülmüştür. Fakat 5 hafta remiyelinizasyona bırakılanlara göre bu oran daha düşük bulunmuştur.

Hayvanlardaki gliozisin derecesi, en fazla splenium ve isthmus da görülürken, nispeten CC'un trunkus bölgesinde daha az GFAP ekspresyonuyla demiyelinizasyonu yansıtmaktadır. Fakat splenium kısımları incelendiğinde, gruplar arasında anlamlı fark görülmüştür (Steelman, Thompson, ve Li, 2012). Bu çalışma ile uyumlu olarak bizim çalışmamızda da kuprizon verilen gruplarda kontrol grubuna göre splenium, trunkus ve genuda MBP ekspresyon miktarı azalmıştır; buna paralel olarak da CC'da GFAP ekspresyonu artmıştır. CC'un trunkus bölgesinde GFAP ekspresyonunda fark bulunmaması bu çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur. Kuprizon maruziyetinden sonra 6 hafta boyunca normal yem tüketen grubun CC'unun genu

bölgesindeki MBP ekspresyon miktarı, demiyelinizasyon grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu durumda süreçte meydana gelen remiyelinizasyonun genu da daha yoğun gerçekleştiğini göstermektedir.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Toksik bir ajan olan kuprizon intoksikasyonunun, MS modeli oluşturmak için sıklıkla kullanıldığı bilinmektedir (Vakilzadeh ve ark., 2016; Tejedor ve ark., 2017). Çalışmamızda, C57BL/6 türü farelere %0,2 dozda kuprizonun 6 hafta boyunca gavaj yoluyla verilmesiyle oluşturulan hasarın, lokomotor aktiviteye etkisi ve beyin dokusunda hippocampus ve CC'de GFAP ve MBP ekspresyonunun immunohistokimya yöntemi ile işaretlenerek demiyelinizasyondaki değişikliği değerlendirilmiştir. Takiben, 6 hafta normal yem verilerek remiyelinizasyon sürecine bırakılan hayvanlarda da meydana gelen ekspresyon değişiklikleri literatürdeki farklı metotlarla oluşturulan hayvan modelleri ile tartışılmıştır.

Çalışmamızın yürüme ve açık alan testinde demiyelinizasyon oluşturulan farelerde lokomotor aktivitede azalma görülmüştür. Buna ek olarak tail flick testinde ise farelerin ısıya karşı verdikleri tepki süresinde bir uzama ile karşılaşmıştır. Bu da kuprizonun gavaj yoluyla oluşturulduğu MS modelinde periferik sinirlerin etkilenebileceğini ve araştırılması gerektiğini düşündürmektedir. Astrositlere özgü olan GFAP antikorunun ve miyelin proteinine spesifik MBP antikorunun immunohistokimya yöntemi ile işaretlenmesi demiyelinizasyonu yorumlamamızda önemli bir yönlendiricidir.

GFAP antikoru ekspresyon miktarı, hippocampus total olarak değerlendirildiğinde D grubunda DK grubuna göre yüksekken, hippocampus bölgeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde CA1 ve CA3 alanında yüksek bulunmuştur. Ayrıca R grubunda D grubuna göre GFAP ekspresyon miktarı, aynı alanlarda düşük saptanmıştır. MBP antikoru ekspresyon miktarı hippocampus total olarak değerlendirildiğinde D grubunda DK grubuna göre düşük bulunurken, hippocampus bölgeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde CA1 ve CA2'de anlamlı bir fark görülmezken, CA3'de D grubunda DK grubuna göre düşük bulunmuştur.

GFAP antikoru ekspresyon miktarı, CC total olarak değerlendirildiğinde D grubunda DK grubuna göre yüksek ve R grubunda D grubuna göre düşük bulunmuştur. GFAP ekspresyon miktarı, CC'un alt bölgeleri incelendiğinde ise trunkus'ta gruplar arasında anlamlı fark görülmezken, spleniumda ve genuda D grubunda R grubuna



göre yüksek bulunmuştur. MBP ekspresyon miktarı ise splenium'da, trunkus'ta ve genu'da D grubunda DK grubuna göre düşük bulunmuştur.

Sonuçlarımıza göre kuprizon farede MS modeli oluşturmak için uygun bir ajandır. Özellikle gavaj yolunun tercih edilmesi de eşit dozlarda kullanılmasını sağlamak amacıyla tercih ettiğimiz önemli bir yöntemdir. Tüm hippocampus'ta olmak üzere özellikle CA3 alanında gözlenen hasar demiyelinizasyon ve remiyelinizasyon çalışmaları için hippocampus'un uygun olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda, çalışmamızın, hem MSS'e yansıyan hem de MSS'e has inflamatuvar hastalıklarda ve bunların periferik yansıyan yanıtlarının incelenmesinde, yeni projelere kaynaklık edebileceği kanaatindeyiz. Modelin sorunsuzca çalışması, hastalığın tedavisinde kullanılabilir yeni ajanların denenmesine de katkı sağlayacağından konuyla ilgili yeni projelere ışık tutacaktır.

## KAYNAKLAR

Acs P, Kipp M, Norkute A, Johann S, Clarner T, Braun A, Berente Z, Komoly S, Beyer C. 17beta-estradiol and progesterone prevent cuprizone provoked demyelination of corpus callosum in male mice. *Glia*. 2009; 57(8): 807-814.

Acs P, Selak MA, Komoly S, Kalman, B. Distribution of oligodendrocyte loss and mitochondrial toxicity in the cuprizone-induced experimental demyelination model. *J Neuroimmunol*. 2013; 262(1-2): 128-131.

Aleksandar D, Aaron JJ, Allan JB, Arthur EW, Moses R, Istvan P. The Relevance of Animal Models in Multiple Sclerosis Research. *Pathophysiology*. 2011; 18(1).

Alvarez-Sanchez N, Cruz-Chamorro I, Diaz-Sanchez M, Sarmiento-Soto H, Medrano-Campillo P, Martinez-Lopez A, Lardone PJ, Guerrero JM, Carrillo-Vico A. Melatonin reduces inflammatory response in peripheral T helper lymphocytes from relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *J Pineal Res*; 2017.

Arancibia-Carcamo IL, Attwell D. The node of Ranvier in CNS pathology. *Acta Neuropathologica*. 2014; 128(2): 161-175.

Armstrong RC, Le TQ, Frost EE, Borke RC, Vana AC. Absence of fibroblast growth factor 2 promotes oligodendroglial repopulation of demyelinated white matter. *J Neurosci*. 2002; 22(19): 8574-9785.

Baker D, Jackson S. Models of Multiple Sclerosis. *ACNR*. 2007; 6(6): 10-12.

Basoglu H, Boylu NT, Kose H. Cuprizone-induced demyelination in Wistar rats; electrophysiological and histological assessment. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013; 17(20): 2711-2717.

Benetti F, Ventura M, Salmini B, Ceola S, Carbonera D, Mammi S, Zitolo A, D'Angelo P, Urso E, Maffia M, Salvato B, Spisni E. Cuprizone neurotoxicity, copper deficiency and neurodegeneration. *Neurotoxicology*. 2010; 31(5): 509-517.

Berkovich R. Treatment of acute relapses in multiple sclerosis. *Neurotherapeutics*. 2013; 10(1): 97-105.

Biancotti JC, Kumar S, de Vellis J. Activation of inflammatory response by a combination of growth factors in cuprizone-induced demyelinated brain leads to myelin repair. *Neurochem Res.* 2008; 33(12): 2615-2628.

Bielekova B, Martin R. Development of biomarkers in multiple sclerosis. *Brain.* 2004; 127: 1463-1478.

Boiko T, Winckler B. Myelin under construction - teamwork required. *J Cell Biol.* 2006; 172(6): 799-801.

Boz C. Multipl skleroz tanı kriterleri In "Temel ve Klinik Nöroimmunoloji" (R. Karabudak, ed.), ADA Basın Yayın Ltd. Şti, Ankara, 2013; 259-264.

Brok HP, Bauer J, Jonker M, Blezer E, Amor S, Bontrop RE, Laman JD, Hart BA. Non-human primate models of multiple sclerosis. *Immunol Rev.* 2001; 183: 173-185.

Bruck W, Porada P, Poser S, Rieckmann P, Hanefeld F, Kretzschmar HA, Lassmann H. Monocyte/macrophage differentiation in early multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol.* 1995; 38(5): 788-796.

Bulut S, Kılıç H, Demir CF. Yukarı Fırat Bölgesinde Multipl Skleroz Tanısı İle İzlenen Hastaların Klinik ve Demografik Özellikleri. *Fırat Tıp Dergisi.* 2011; 16(2): 84-90.

Buschmann JP, Berger K, Awad H, Clarner T, Beyer C, Kipp M. Inflammatory response and chemokine expression in the white matter corpus callosum and gray matter cortex region during cuprizone-induced demyelination. *J Mol Neurosci.* 2012; 48(1): 66-76.

Carter RJ, Lione LA, Humby T, Mangiarini L, Mahal A, Bates GP, Dunnett SB, Morton AJ. Characterization of progressive motor deficits in mice transgenic for the human Huntington's disease mutation. *J Neurosci.* 1999; 19(8): 3248-3257.

Chastain EM, Duncan DS, Rodgers JM, Miller SD. The role of antigen presenting cells in multiple sclerosis. *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1812(2): 265-274.

Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet.* 2002; 359(9313): 1221-1231.

Compston A, Confavreux C, Lassmann H, McDonald I, Miller DJN, Smith KHW. The story of Multiple Sclerosis. 4ed. In "McAlpine's Multiple Sclerosis"; 2006; 3-62.

Denic A, Johnson AJ, Bieber AJ, Warrington AE, Rodriguez M, Pirko I. The relevance of animal models in multiple sclerosis research. *Pathophysiology*. 2011; 18(1): 21-29.

Dere F. Nöroanatomî fonksiyonel nöroloji atlası. 3 ed. Nobel Tıp Kitabevi, Adana; 2000.

Dutta R, Chang A, Doud MK, Kidd GJ, Ribaldo MV, Young EA, Fox RJ, Staugaitis SM, Trapp BD. Demyelination causes synaptic alterations in hippocampi from multiple sclerosis patients. *Ann Neurol*. 2011; 69(3): 445-454.

Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH. Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain*. 1997; 120 (Pt 3): 393-399.

Fields RD. White matter in learning, cognition and psychiatric disorders. *Trends Neurosci*. 2008; 31(7): 361-370.

Franco-Pons N, Torrente M, Colomina MT, Vilella E. Behavioral deficits in the cuprizone-induced murine model of demyelination/remyelination. *Toxicol Lett*. 2007; 169(3): 205-213.

Frischer JM, Weigand SD, Guo Y, Kale N, Parisi JE, Pirko I, Mandrekar J, Bramow S, Metz I, Brück W, Lassmann H, Lucchinetti CF. Clinical and pathological insights into the dynamic nature of the white matter multiple sclerosis plaque. *Annals of Neurology*. 2015; 78(5): 710-721.

Frohman EM, Racke MK, Raine CS. Multiple sclerosis--the plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med*. 2006; 354(9): 942-955.

Gedizoglu M. Nörolojik hastalıklarda IVIG kullanımı ve plazma değişimi. In "Temel ve Klinik Nöroimmunoloji" (R. Karabudak, ed.), ADA Basım Yayın Ltd. Şti, Ankara; 2013, 429.

Geurts JJ, Bo L, Roosendaal SD, Hazes T, Daniels R, Barkhof F, Witter MP, Huitinga I, van der Valk P. Extensive hippocampal demyelination in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2007; 66(9): 819-827.

Geurts JJ, Pouwels PJ, Uitdehaag BM, Polman CH, Barkhof F, Castelijns JA. Intracortical lesions in multiple sclerosis: improved detection with 3D double inversion-recovery MR imaging. *Radiology.* 2005; 236(1): 254-260.

Gilmore CP, Donaldson I, Bo L, Owens T, Lowe J, Evangelou N. Regional variations in the extent and pattern of grey matter demyelination in multiple sclerosis: a comparison between the cerebral cortex, cerebellar cortex, deep grey matter nuclei and the spinal cord. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry.* 2009; 80(2): 182-187.

Gudi V, Gingele S, Skripuletz T, Stangel M. Glial response during cuprizone-induced de- and remyelination in the CNS: lessons learned. *Front Cell Neurosci.* 2014; 8: 73.

Hafler DA, Slavik JM, Anderson DE, O'Connor KC, De Jager P, Baecher-Allan C. Multiple sclerosis. *Immunol Rev.* 2005; 204: 208-231.

Hayes CE. Vitamin D: a natural inhibitor of multiple sclerosis. *Proc Nutr Soc.* 2000; 59(4): 531-535.

Hibbits N, Pannu R, Wu TJ, Armstrong RC. Cuprizone demyelination of the corpus callosum in mice correlates with altered social interaction and impaired bilateral sensorimotor coordination. *Asn Neuro.* 2009; 1(3).

Hiremath MM, Saito Y, Knapp GW, Ting JP, Suzuki K, Matsushima GK. Microglial/macrophage accumulation during cuprizone-induced demyelination in C57BL/6 mice. *J Neuroimmunol.* 1998; 92(1-2): 38-49.

Hochstrasser T, Exner GL, Nyamoya S, Schmitz C, Kipp M. Cuprizone-Containing Pellets Are Less Potent to Induce Consistent Demyelination in the Corpus Callosum of C57BL/6 Mice. *J Mol Neurosci.* 2017; 61(4): 617-624.

Iakovidis I, Delimaris I, Piperakis SM. Copper and its complexes in medicine: a biochemical approach. *Mol Biol Int.* 2011; 594529.

Ikeda K, Ito H, Hidaka T, Takazawa T, Sekine T, Yoshii Y, Hirayama T, Kawabe K, Kano O, Iwasaki Y. Repeated non-enhancing tumefactive lesions in a patient with a neuromyelitis optica spectrum disorder. *Intern Med.* 2011; 50(9): 1061-1064.

Inserra MM, Bloch DA, Terris DJ. Functional indices for sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the mouse. *Microsurgery.* 1998; 18(2): 119-124.

Johns TG, Bernard CC. The structure and function of myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J Neurochem.* 1999; 72(1): 1-9.

Karabudak R. Klinik ve nöroimmünolojiye giriş. In "Temel ve Klinik Nöroimmünoloji" (Karabudak R, ed.), ADA Basın Yayın, Ankara; 2013, 177.

Karabulut E. Kuprizon ile oluşturulmuş demiyelinizasyon modelinde GABA-B agonisti baklofenin etkileri. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2013, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Z. Yazıcı).

Karayiğit MÖ. Farelerde Kuprizon ile Oluşturulan Demiyelinizasyonda Patolojik ve İmmunohistokimyasal Çalışmalar. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2012, Samsun (Danışman: Prof. Dr. M Yarım).

Kesterson JW, Carlton WW. Monoamine oxidase inhibition and the activity of other oxidative enzymes in the brains of mice fed cuprizon. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1971; 20(3): 386-395.

Kipp M, Clarner T, Dang J, Copray S, Beyer C. The cuprizon animal model: new insights into an old story. *Acta Neuropathologica.* 2009; 118(6): 723-736.

Kipp M, Nyamoya S, Hochstrasser T, Amor S. Multiple sclerosis animal models: a clinical and histopathological perspective. *Brain Pathol.* 2017; 27(2): 123-137.

Kumar DR, Aslinia F, Yale SH, Mazza JJ. Jean-Martin Charcot: the father of neurology. *Clin Med Res.* 2011; 9(1): 46-49.

Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, Bruck W, Rauschka H, Bergmann M, Schmidbauer M, Parisi JE, Lassmann H. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain*. 2005; 128(Pt 11): 2705-2712.

Lampert PW. Autoimmune and virus-induced demyelinating diseases. A review. *Am J Pathol*. 1978; 91(1): 176-208.

Lassmann H, Bradl M. Multiple sclerosis: experimental models and reality. *Acta Neuropathologica*. 2017; 133(2): 223-244.

Less MB, Brostoff SW. Proteins of myelin. 2 ed. In "MYELIN" (P. Morell, ed.), 1984; 197-206.

Li Z, He Y, Fan S, Sun B. Clemastine rescues behavioral changes and enhances remyelination in the cuprizone mouse model of demyelination. *Neurosci Bull*. 2015; 31(5): 617-625.

Lublin F. History of modern multiple sclerosis therapy. *J Neurol*. 2005; 252(3): iii3-iii9.

Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol*. 2000; 47(6): 707-717.

Mashayekhi F, Salehi Z. Administration of vitamin D3 induces CNPase and myelin oligodendrocyte glycoprotein expression in the cerebral cortex of the murine model of cuprizone-induced demyelination. *Folia Neuropathol*. 2016; 54(3): 259-264.

Matsushima GK, Morell P. The neurotoxicant, cuprizone, as a model to study demyelination and remyelination in the central nervous system. *Brain Pathology*. 2001; 11(1): 107-116.

Mehanna R, Jankovic J. Movement disorders in multiple sclerosis and other demyelinating diseases. *J Neurol Sci*. 2013; 328(1-2): 1-8.

Messori L, Casini A, Gabbiani C, Sorace L, Muniz-Miranda M, Zatta P. Unravelling the chemical nature of copper cuprizone. *Dalton Trans*. 2007; 21: 2112-2114.

Moldovan N, Al-Ebraheem A, Lobo L, Park R, Farquharson MJ, Bock NA. Altered transition metal homeostasis in the cuprizone model of demyelination. *Neurotoxicology*. 2015; 48: 1-8.

Morell P, Quarles RH, Norton WT. Myelin formation, structure, and biochemistry. 5 ed. In "Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects" (S. GJ, ed.), New York: Raven Press. 1994; 117-143.

Murray TJ. Multiple Sclerosis: The History of a Disease. *J Royal Soc Med*. 2005; 98: 289.

Murray TJ. The history of multiple sclerosis: the changing frame of the disease over the centuries. *J Neurol Sci*. 2009; 277(1): 3-8.

Nielsen NM, Westergaard T, Rostgaard K, Frisch M, Hjalgrim H, Wohlfahrt J, Koch-Henriksen N, Melbye M. Familial risk of multiple sclerosis: a nationwide cohort study. *Am J Epidemiol*. 2005; 162(8): 774-778.

Norkute A, Hieble A, Braun A, Johann S, Clarner T, Baumgartner W, Beyer C, Kipp M. Cuprizone treatment induces demyelination and astrogliosis in the mouse hippocampus. *J Neurosci Res*. 2009; 87(6): 1343-1355.

Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2000; 343(13): 938-952.

Oh S, Cudrici C, Ito T, Rus H. B-cells and humoral immunity in multiple sclerosis. Implications for therapy. *Immunol Res*. 2008; 40(3): 224-234.

Olson JK, Croxford JL, Calenoff MA, Dal Canto MC, Miller SD. A virus-induced molecular mimicry model of multiple sclerosis. *J Clin Invest*. 2001; 108(2): 311-318.

Öcek Ö, Köşkdereioğlu A, Gücüyener M, Ekim G, Bilgin RR, Gedizlioğlu M. Multipl Sklerozda Demiyelinizan Atak Bulgusu Olarak Fokal El Distonisi: Üç Olgu Sunumu. *Türk Noroloji Dergisi*. 2014; 20(4): 141-143.

Pachner AR. Experimental models of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol*. 2011; 24(3): 291-299.



Paradiso S. Neuroimaging: A companion to Adams and Victor's principles of neurology. *Am J Psychiat.* 1996; 153: 729-729.

Partridge MA, Gopinath S, Myers SJ, Coorsen JR. An initial top-down proteomic analysis of the standard cuprizone mouse model of multiple sclerosis. *J Chem Biol.* 2016; 9(1): 9-18.

Paus T, Zijdenbos A, Worsley K, Collins DL, Blumenthal J, Giedd JN, Rapoport JL, Evans AC. Structural maturation of neural pathways in children and adolescents: in vivo study. *Science.* 1999; 283(5409): 1908-1911.

Pearce JM. Historical descriptions of multiple sclerosis. *Eur Neurol.* 2005; 54(1): 49-53.

Pithadia A, Jain S, Navale A. Pathogenesis and treatment of multiple sclerosis (MS). *The Internet Journal of Neurology.* 2008; 10(2).

Poser CM, Brinar VV. Diagnostic criteria for multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg.* 2001; 103(1): 1-11.

Praet J, Guglielmetti C, Berneman Z, Van der Linden A, Ponsaerts, P. Cellular and molecular neuropathology of the cuprizone mouse model: clinical relevance for multiple sclerosis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2014; 47: 485-505.

Procaccini C, De Rosa V, Pucino V, Formisano L, Matarese G. Animal models of Multiple Sclerosis. *Eur J Pharmacol.* 2015; 759: 182-191.

Pugliatti M, Rosati G, Carton H, Riise T, Drulovic J, Vecsei L, Milanov I. The epidemiology of multiple sclerosis in Europe. *Eur J Neurol.* 2006; 13(7): 700-722.

Quarles RH. Comparison of CNS and PNS myelin proteins in the pathology of myelin disorders. *J Neurol Sci.* 2005; 228(2): 187-189.

Quarles RH, Macklin WB, Morell P. Myelin formation, structure and biochemistry. 7 ed. In "Basic Neurochemistry Molecular, Cellular and Medical Aspects" (G. J. Siegel, ed.), 2005; 51-69.

Ransohoff RM. Animal models of multiple sclerosis: the good, the bad and the bottom line. *Nat Neurosci.* 2012; 15(8): 1074-1077.

Rawji KS, Yong VW. The benefits and detriments of macrophages/microglia in models of multiple sclerosis. *Clin Dev Immunol.* 2013; 948-976.

Robinson AP, Harp CT, Noronha A, Miller SD. The experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) model of MS: utility for understanding disease pathophysiology and treatment. *Handb Clin Neurol.* 2014; 122: 173-189.

Rosati G. The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update. *Neurol Sci.* 2001; 22(2): 117-139.

Schmidt ER. White Matter and Myelin Disorders. In "Practical Surgical Neuropathology: A Diagnostic Approach" (Perry A ve Brat DJ, eds.) Churchill Livingstone/Elsevier, Philadelphia; 2010.

Schmidt T, Awad H, Slowik A, Beyer C, Kipp M, Clarner T. Regional heterogeneity of cuprizone-induced demyelination: topographical aspects of the midline of the corpus callosum. *J Mol Neurosci.* 2013; 49(1): 80-88.

Seidl AH. Regulation of conduction time along axons. *Neuroscience.* 2014; 276: 126-134.

Skripuletz T, Gudi V, Hackstette D, Stangel M. De- and remyelination in the CNS white and grey matter induced by cuprizone: the old, the new, and the unexpected. *Histol Histopathol.* 2011; 26(12): 1585-1597.

Skripuletz T, Lindner M, Kotsiari A, Garde N, Fokuhl J, Linsmeier F, Trebst C, Stangel M. Cortical demyelination is prominent in the murine cuprizone model and is strain-dependent. *Am J Pathol.* 2008; 172(4): 1053-1061.

Soundarapandian MM, Selvaraj V, Lo UG, Golub MS, Feldman DH, Pleasure DE, Deng W. Zfp488 promotes oligodendrocyte differentiation of neural progenitor cells in adult mice after demyelination. *Sci Rep.* 2011; 1: 2.

Sriram S, Steiner I. Experimental allergic encephalomyelitis: a misleading model of multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2005; 58(6): 939-945.

Steelman AJ, Thompson JP, Li J. Demyelination and remyelination in anatomically distinct regions of the corpus callosum following cuprizone intoxication. *Neurosci Res.* 2012; 72(1): 32-42.

Sun J, Zhou H, Bai F, Ren Q, Zhang Z. Myelin injury induces axonal transport impairment but not AD-like pathology in the hippocampus of cuprizone-fed mice. *Oncotarget.* 2016; 7(21): 30003-300017.

Tagge I, O'Connor A, Chaudhary P, Pollaro J, Berlow Y, Chalupsky M, Bourdette D, Woltjer R, Johnson M, Rooney W. Spatio-Temporal Patterns of Demyelination and Remyelination in the Cuprizone Mouse Model. *PLoS One.* 2016; 11(4): e0152480.

Taraboletti A, Walker T, Avila R, Huang H, Caporoso J, Manandhar E, Leeper TC, Modarelli DA, Medicetty S, Shriver LP. Cuprizone Intoxication Induces Cell Intrinsic Alterations in Oligodendrocyte Metabolism Independent of Copper Chelation. *Biochemistry.* 2017; 56(10): 1518-1528.

Taylor LC, Gilmore W, Matsushima GK. SJL mice exposed to cuprizone intoxication reveal strain and gender pattern differences in demyelination. *Brain Pathol.* 2009; 19(3): 467-479.

Taylor LC, Gilmore W, Ting JP, Matsushima GK. Cuprizone induces similar demyelination in male and female C57BL/6 mice and results in disruption of the estrous cycle. *J Neurosci Res.* 2010; 88(2): 391-402.

Tejedor LS, Wostradowski T, Gingele S, Skripuletz T, Gudi V, Stangel M. The Effect of Stereotactic Injections on Demyelination and Remyelination: a Study in the Cuprizone Model. *J Mol Neurosci.* 2017; 61(4): 479-488.

Terzioğlu G. Multiple Skleroz Kuprizon Fare Modelinde Gen Ekspresyonlarındaki Değişikliklerin Gerçek Zamanlı (qrt) Pcr Yöntemi İle Tayin Edilmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 2012, İstanbul, (Danışman: Doç. Dr. ET Turanlı).

Tsunoda I, Fujinami RS. Inside-Out versus Outside-In models for virus induced demyelination: axonal damage triggering demyelination. *Springer Semin Immunopathol.* 2002; 24(2): 105-125.

Turan FÖ. Multipl skleroz: Klinik özellikler ve seyir. In "Temel ve Klinik Nöroimmünoloji" (R. Karabudak, ed.), ADA Basın Yayın, Ankara; 2013; s: 223.

Turk Boru U, Alp R, Sur H, Gul L. Prevalence of multiple sclerosis door-to-door survey in Maltepe, Istanbul, Turkey. *Neuroepidemiology*. 2006; 27(1): 17-21.

Ullén F. Is activity regulation of late myelination a plastic mechanism in the human nervous system? *Neuron Glia Biol*. 2009; 5(1-2): 29-34.

Ünal A, Mavioğlu H, Emre U. Multipl Skleroz. In "Multipl Skleroz Tanı ve Tedavi Kılavuzu" Galenos Yayınevi, İstanbul; 2016.

Vakilzadeh G, Khodaghali F, Ghadiri T, Darvishi M, Ghaemi A, Noorbakhsh F, Gorji A, Sharifzadeh M. Protective Effect of a cAMP Analogue on Behavioral Deficits and Neuropathological Changes in Cuprizone Model of Demyelination. *Mol Neurobiol*. 2015; 52(1): 130-141.

Vakilzadeh G, Khodaghali F, Ghadiri T, Ghaemi A, Noorbakhsh F, Sharifzadeh M, Gorji A. The Effect of Melatonin on Behavioral, Molecular, and Histopathological Changes in Cuprizone Model of Demyelination. *Mol Neurobiol*. 2016; 53(7): 4675-4684.

Wang H, Li C, Mei F, Liu Z, Shen HY, Xiao L. Cuprizone-induced demyelination in mice: age-related vulnerability and exploratory behavior deficit. *Neurosci Bull*. 2013; 29(2): 251-259.

Witherick J, Wilkins A, Scolding N, Kemp K. Mechanisms of oxidative damage in multiple sclerosis and a cell therapy approach to treatment. *Autoimmune Dis*. 2011; 164608.

Wu GF, Alvarez E. The immunopathophysiology of multiple sclerosis. *Neurol Clin*. 2011; 29(2): 257-278.

Xu H, Yang HJ, Li XM. Differential effects of antipsychotics on the development of rat oligodendrocyte precursor cells exposed to cuprizone. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2014; 264(2): 121-129.

Zatta P, Raso M, Zambenedetti P, Wittkowski W, Messori L, Piccioli F, Mauri PL, Beltramini M. Copper and zinc dismetabolism in the mouse brain upon chronic cuprizone treatment. *Cell Mol Life Sci.* 2005; 62(13): 1502-1513.

Zhen W, Liu A, Lu J, Zhang W, Tattersall D, Wang J. An Alternative Cuprizone-Induced Demyelination and Remyelination Mouse Model. *Asn Neuro.* 2017; 9(4): 1759091417725174.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Serra	<b>Uyruğu</b>	T.C.
<b>Soyadı</b>	ÖZTÜRK	<b>Tel no</b>	05548018471
<b>Doğum Tarihi</b>	04.11.1990	<b>e-posta</b>	serraozturk@akdeniz.edu.tr

### Eğitim Bilgileri

	<b>Mezun Olduğu Kurum</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Lise</b>	Atatürk Anadolu Lisesi	2009
<b>Lisans</b>	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2014
<b>Yüksek Lisans</b>	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi	Devam ediyor

### İş Deneyimi

<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre (Yıl-Yıl)</b>
Arş. Gör.	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi	2017-devam ediyor

<b>Yabancı Dilleri</b>	<b>Sınav Türü</b>	<b>Puanı</b>
İngilizce	YÖKDİL	63,750

### Proje Deneyimi

<b>Proje Adı</b>	<b>Destekleyen Kurum</b>	<b>Süre (Yıl-Yıl)</b>
Diabetes Mellitusun Rotator Manset Yırtıklarındaki Yağlı Dejenerasyona Etkisi	Sağlık Bakanlığı Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi Eğitim Planlama Komisyonu	2017

## Yayınlar ve Bildiriler

- \* Özgür Ö, Sindel M, Hizay A, **Öztürk S**, Aytaç G, Sindel T. Occipital artery arising from the internal carotid artery: a case report. Surg Radiol Anat. 2017 Feb;39(2):219-222.
- \* **Öztürk S**, Aytaç G, Kızılay F, Sindel M. Multipl Skleroz. Akd Tıp D / Akd Med J 2017; 3: 137-147.

## Hakemli Kongre/Sempozyum Bildiri Kitaplarında Yer Alan Çalışmalar

- \* **Öztürk S**, Göksu K, Aytaç G, Tanrıover G, Hatipoğlu B, Derin N, Sindel M. Corpus Callosum Multipl skleroz fare modelinde demiyelinizasyona yatkın bir alandır. 18.Ulusal Anatomi Kongresi, Abant, 25-27 Eylül, Anatomy, vol.11,no.2 ss.101,2017 (Sözlü sunum)
- \* Keven A, **Öztürk S**, Aytaç G, Sindel M. A. circumflexa femoris medialis'in orijin varyasyonları. 18.Ulusal Anatomi Kongresi, Abant, 25-27 Eylül, Anatomy, vol.11,no.2 ss.134,2017 (Poster sunumu)
- \* Keven A, **Öztürk S**, Aytaç G, Sindel M. Arteria profunda femoris'in orijin varyasyonları. 18.Ulusal Anatomi Kongresi, Abant, 25-27 Eylül, Anatomy, vol.11,no.2 ss.134,2017 (Poster sunumu)
- \* **Öztürk S**, Göksu K, Aytaç G, Tanrıover G, Hatipoğlu B, Derin N, Sindel M. Kuprizon; fare multipl skleroz modeli için iyi bir ajandır. 15.Ulusal Sinirbilim Kongresi, Sakarya, 07-10 Mayıs 2017, (Poster sunumu)
- \* Keven A, **Öztürk S**, Aytaç G, Kaştan Ö, Sindel M. Variations of the hyoid bone. 17.Ulusal Anatomi Kongresi, Eskişehir, 5-9 Eylül 2016, vol.10, no.2, ss.190, (Poster sunumu)
- \* Keven A, **Öztürk S**, Aytaç G, Sindel M. Sex-related morphologic differences in the hyoid bone. 17.Ulusal Anatomi Kongresi, Eskişehir, 5-9 Eylül 2016, vol.10, no.2, ss.190, (Poster sunumu)
- \* Göztepe MB, **Öztürk S**, Aytaç G, Sindel M. Morphology and morphometry of infraorbital foramen. 17.Ulusal Anatomi Kongresi, Eskişehir, 5-9 Eylül 2016, Anatomy, vol.10, no.2 (Poster sunumu)
- \* Sindel M, **Öztürk S**, Aytaç G, Acar B. Facies articularis talaris ve sulcus calcanei morfolojisi. Antropoloji Radyoloji ve Anatomi kongresi, Ankara, 12-13 Kasım 2015, ss.187-187, (Poster sunumu)
- \* Özgür Ö, Sindel M, **Öztürk S**, Aytaç G, Sindel H.T. Occipital artery arising from internal carotid artery: a case report. 24th International Symposium on Morphological Sciences, İstanbul, 2-6 Eylül 2015, vol.9, no.2, pp.207-207, (Poster sunumu)
- \* Sindel M, **Öztürk S**, Kaştan Ö, Aytaç G, Acar B. Facies articularis calcanea ve sulcus calcanei morfolojisi. Antropoloji Radyoloji ve Anatomi kongresi, Ankara, 12-13 Kasım 2015, ss.189-189, (Poster sunumu)
- \* **Öztürk S**, Sindel M, Aytaç G. Morphometric analysis of hard palate sutures. International congress of anthropological sciences, Ankara, 9-11 Nisan 2015, pp.147-147, (Poster sunumu)