



T.C.

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MULTİPLE SKLEROZ HASTALARINDA OKSİDATİF STRESİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Hazırlayan

GİZEM ÇİTAK

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Yrd. Doç. Dr. ZELİHA CANSEL ÖZMEN

TOKAT

2016

MULTİPLE SKLEROZ HASTALARINDA OKSİDATİF STRESİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: 21 / 09 / 2016

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Başkan : Doç. Dr. Köksal DEVECİ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Zeliha CANSEL ÖZMEN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Tuna SEMERCİ

Bu tez, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Yönetim Kurulunun 29/08/2016 tarih ve 17/09 sayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü:

Mühür

İmza

T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile, bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

21/09/2016

GİZEM ÇİTAK

İmzası

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda bilgi ve deneyimleri ile beni destekleyen tez yöneticim Yrd. Doç. Dr. Zeliha Cansel ÖZMEN'e, Tıbbi Biyokimya A.D. başkanı Doç. Dr. Köksal DEVECİ'ye, Tıbbi Biyokimya A.D. eski öğretim üyesi Doç. Dr. Ali AKBAŞ'a, Nöroloji A.D. öğretim üyelerinden Doç. Dr. Dürdane AKSOY'a, Öğr. Gör. Dr. İsmail BENLİ'ye, birlikte çalıştığım ve çalışmalarımda yardımcı olan araştırma görevlisi Velid UNSAL'a,

Aileme ve eşime desteklerinden dolayı

Teşekkürlerimi sunarım.

GİZEM ÇİTAK

MULTİPLE SKLEROZ HASTALARINDA OKSİDATİF STRESİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Multiple Skleroz (MS), santral sinir sisteminin bir hastalığı olup; kronik inflamatuvar seyreden bir süreçtir. Genellikle genç bireylerde görülen, önemli sorunlara ve iş gücü kaybına neden olan, ilerleyici bir hastalıktır. MS patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamakla beraber oksidatif stresin bu süreçte rol oynadığı bilinmektedir. MS hastaları oksidatif hasara sağlıklı kişilere göre daha duyarlıdır. Diğer yandan TAS (total antioksidan seviye) seviyelerinin kontrollere göre azaldığı bilinmektedir.

Bu çalışmada amacımız, MS hastalarında, antioksidan enzimler olan Paraoksonaz (PON), Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GPX) ve oksidatif stresi gösteren Malondialdehit (MDA), Protein Karbonil (PC) ve Nitrik Oksit (NO) düzeylerinin hastalığın etiyopatogenezine katkıda bulunup bulunmadığını incelemektir. Bu amaçla çalışmaya Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji polikliniğine başvuran ve MS tanısı alan 30 hasta ve 30 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Serum SOD, GPX, MDA, PC ve NO düzeyleri spektrofotometrik yöntemle PON seviyesi ise ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür.

Çalışmamızda MS hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, serum PON, SOD, MDA ve NO düzeyleri MS grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi. Ancak bireylerin GSH-Px ve PC düzeylerinin MS ve kontrol grubu arasındaki farkı istatistiksel açıdan anlamlı bulunamadı.

Çalışmamız sonuçlarına göre MS'li hastalarda MDA ve NO gibi oksidatif stres parametrelerin yüksek olduğu görülmüş ve oksidatif stresin MS etiyopatogenezine katkı sağlayabileceği düşünülmüştür. PON ve SOD gibi antioksidan parametrelerde görülen artış ise artmış oksidatif strese karşı oluşan adaptasyon mekanizması olabileceğini akla getirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Multiple Skleroz, Süperoksit Dismutaz, Nitrik Oksit, Glutasyon Peroksidaz.

THE EVALUATION OF OXIDATIVE STRESS IN THE PATIENTS MULTIPLE SCLEROSIS

ABSTRACT

Multiple Sclerosis (MS) is a central nervous system disease which process as chronic inflammation. Also, it is a progressive disease which is usually seen among young individuals and causes significant problems and loss of the capability to work. Even though MS pathophysiology cannot be clarified precisely, it is known that oxidative stress has a role within this process. In comparison to healthy people, the patients with MS are more sensitive to oxidative damages. According to the examinations, it is also known that total antioxidant levels (TAS) decrease.

The aim of this study is to investigate whether the antioxidant enzymes such as Paraoxonase (PON), Superoxide Dismutase (SOD), Glutathione Peroxidase (GPX) as well as Malondialdehyde (MDA), Protein Carbonyl (PC), Nitric Oxide (NO) levels, which point out oxidative stress, make contribution to aetiopathogenesis of the disease. For this purpose, besides the 30 healthy volunteers, the 30 patients having applied to Gaziosmanpaşa University Hospital, Neurology Department and having been diagnosed as MS were included in this study. The serum levels of SOD, GPX, MDA, PC and NO were determined by the spectrophotometric method and PON levels were measured by ELISA method.

In the study, when the patient and the control groups were compared, the serum levels of PON, SOD, MDA and NO were found to be higher in the MS group than in the control group; also, this difference was statistically significant. However, in terms of the GSH-Px and PC levels, the difference between the groups was not statistically significant.

As a result of the study, it was found that the oxidative stress parameters such as MDA and NO were high in the patients with MS. Therefore, it can be thought that oxidative stress may contribute to MS aetiopathogenesis. Regarding the increased in the antioxidant parameters such as PON and SOD, it can be suggested that an adaptation mechanism developing against the escalating oxidative stress is possible.

Keywords: Multiple Sclerosis, Superoxide Dismutase, Nitric Oxide, Glutathione Peroxidase.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ETİK SÖZLEŞME.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 .MULTİPLE SKLEROZ	3
2.1.1.TARİHÇESİ.....	3
2.1.2.EPİDEMİYOLOJİSİ.....	3
2.1.3.ETİYOLOJİSİ.....	4
2.1.3.1.Aile Çalışmaları.....	4
2.1.3.2.Cinsiyet Farklılıkları.....	5
2.1.3.3.Göç Çalışmaları.....	5
2.1.4.PATOGENEZİ	5
2.1.4.1.Kan Beyin Bariyeri	6
2.1.4.2.Myelinizasyonun Düzenlenmesi.....	7
2.1.4.3.Demiyelinizasyon Mekanizmaları.....	7
2.1.4.4.Akson Dejenerasyonu	7
2.1.5.MULTİPLE SKLEROZ TİPLERİ	8
2.1.6.TANI KRİTERLERİ.....	8
2.1.7.KLİNİK ÖZELLİKLERİ	8
2.1.8.TEDAVİ.....	10
2.1.8.1.Semptomatik Tedavi.....	10
2.1.8.2.Koruyucu Tedavi.....	10
2.1.8.3.Akut Atak Tedavisi	11

2.2. SERBEST RADİKALLER VE REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ	11
2.2.1.Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	12
2.2.2.Reaktif Nitrojen Türleri	13
2.2.3. Serbest Radikal Üretim Kaynakları	13
2.2.3.1.Serbest Radikallerin Lipidlere Etkisi	13
2.2.3.2.Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi	13
2.2.3.3.Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi.....	14
2.2.3.4. Serbest Radikallerin DNA ' ya Etkileri.....	14
2.3. ANTİOKSİDAN SAVUNMA.....	15
2.3.1.Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	15
2.3.2. Enzimatik Antioksidanlar.....	17
2.3.2.1. Katalaz.....	17
2.3.2.2.Glutatyon Redüktaz.....	17
2.3.2.3. Glutatyon S Transferaz.....	17
2.3.2.4.Süperoksit Dismutaz	18
2.3.2.5.Glutatyon Peroksidaz.....	18
2.3.2.6. Paraoksonaz.....	19
2.3.2.7. Nitrik Oksit.....	20
2.3.2.8.Protein Karbonil.....	21
2.3.2.9.Malondialdehit.....	21
2.4. OKSİDATİF STRESİN MS PATOFİZYOLOJİSİNDEKİ ROLÜ	21
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1.Çalışma Grubunun Seçimi	24
3.2.Örneklerin Toplanması ve Saklanması	24
3.3.Biyokimyasal inceleme.....	24
3.3.1. Serum MDA Düzeylerinin Ölçümü	24
3.3.2.Serum PC Düzeylerinin Ölçümü.....	25
3.3.3.Serum NO Düzeylerinin Ölçümü	26
3.3.4.Serum SOD Düzeylerinin Ölçümü	27
3.3.5.Serum GPX Düzeylerinin Ölçümü	28
3.3.6. Serum PON Düzeylerinin Ölçümü.....	29
4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	30
5.BULGULAR.....	31
5.1.Serum GPX Düzeyleri	32

5.2.Serum MDA Düzeyleri.....	32
5.3.Serum PC Düzeyleri	33
5.4. Serum NO Düzeyleri	34
5.5.Serum SOD Düzeyleri	35
5.6. Serum PON Düzeyleri	36
6. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
7.KAYNAKLAR	43
8.ÖZGEÇMİŞ.....	56



TABLolar

Tablo	Sayfa
1. Eksojen ve endojen olarak serbest radikal oluşumuna neden olan kaynaklar...12	
2. Serbest radikaller ve neden olduğu reaksiyonlar.....14	
3. Biyolojik sistemdeki antioksidan koruma sistemi elemanları.....16	
4. SOD izozimlerinin özellikleri.....18	
5. GPX izozimlerinin bulunduğu dokular ve özellikleri.....19	
6. GPX izozimlerinin görevleri.....19	
7. Sağlıklı Kontrollerin Ve MS Hastalarının Cinsiyetlerine Göre Dağılımı.....31	
8. Nicel Değişkenlerin Sağlıklı Kontrol Ve MS Hasta Gruplara Göre Dağılımı.....32	

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1. GPx Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre Dağılımı.....	33
2. MDA Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre Dağılımı.....	34
3. PC Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre Dağılımı.....	35
4. NO Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre Dağılımı.....	36
5. SOD Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre Dağılımı.....	37
6. PON Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre Dağılımı.....	38

KISALTMALAR

3NT: 3-Nitrotirozin

ACTH: Adrenokortikotropik Hormon

ADMA: Asimetrik Dimetil Arjinin

AOPP: Protein İleri Oksidasyon Ürünleri

ATP: Adenozin Trifosfat

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

CAT: Katalaz

Cd: Kadmiyum Granülleri

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

EAE: Deneysel Otoimmün Ensefalomyelit

ELİSA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

EPx: Eozinofil Peroksidaz

GBS: Guillan-Barre Sendromu

GPX: Glutasyon Peroksidaz

GSH: Redükte Glutasyon

GSSG: Okside Glutasyon

HDL: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

HO-1: Hem Oksijenaz-1

HOCl: Hipoklorik Asit

HO-OH: Hidrojen Peroksit

Ig G: İmmüoglobulin G

iNOS: Nitrik Oksit Sentaz
KBB: Kan-Beyin Bariyeri
LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LPO: Laktoperoksidaz
MBP: Myelin Basic Protein
MDA: Malondialdehit
MMP: Matri Metalloproteaz
MPO: Myeloperoksidaz
MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRS: Manyetik Rezonans Spektroskopi
MS: Multiple Skleroz
NBT: Nitroblue Tetrazoliumu
NNDA: N-Naftiletilen Daimin
NO: Nitrik Oksit
NOS: Nitrik Oksit Sentaz
OH: Hidroksil
O-O-: Süperoksit
ONOOH: Peroksinitrit
PC: Protein Karbonil
PCC: Protein Karbonil Bileşikleri
PON: Paraoksonaz
PPMS: Primer Progresif Multiple Skleroz
PRMS: Progresif Relapsing Multiple Skleroz
RO: Alkoksil
ROO: Peroksil
ROT: Reaktif Oksijen Türleri

RRMS: Relapsing Remitting Multiple Skleroz

-SH: Sülfidril

SOD: Süperoksit Dismutaz

SPMS: Sekonder Progresif Multiple Skleroz

SSS: Santral Sinir Sistemi

TAK: Total Antioksidan Kapasitesi

TAS: Total Antioksidan Durum

TBA: Tiobarbitürik Asid

TCA: Trisiklik Asetik Asit

VCAM-1: Vascular Cell Adhesion Molecule 1

1. GİRİŞ

Multipl Skleroz (MS), Santral Sinir Sistemi (SSS)'nin en sık görülen hastalığıdır. Genellikle genç bireylerde görülen, önemli sorunlara ve iş gücü kaybına neden olan, ilerleyici bir hastalıktır (Gilroy, 2002). 1868 yılında Paris üniversitesi nöroloji profesörü Jean-Martin Charcot daha önce görmediği bir vakaya rastlamış ve bunun üzerine diğer hastalarıyla karşılaştırma yapmıştır ve çalışmalarıyla plakları saptamıştır. Bu plaklara 'sclerose en plaques' (plak sklerozu) denmiştir (Erciyes Tıp Dergisi, 2002).

Epidemiyolojik çalışmalar, hem genetik hem de çevresel faktörlerin MS gelişimine katkıda bulunduğunu gösterse de henüz bu faktörlerin hastalığı başlatmadaki rolleri tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (Ebers, 1983). MS'in görülme sıklığı dünya üzerinde değişik coğrafya ve iklimlerde değişimler gösterir (Erciyes Tıp Dergisi, 2002). MS 40 yaşın altında olan yetişkinlerde en sık görülen hastalıklardan biridir. Kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülmektedir. Çocuklarda ise daha az görülmekte olup en yüksek görülme sıklığı 30-35 yaş aralığıdır (Ropper ve ark., 2006).

Serbest radikaller en dıştaki atomun yörüngesinde bir veya birden fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, dengeli olmayan moleküllerdir. Çiftlenmemiş elektronlar, serbest radikallere reaktivite kazandırarak birçok biyolojik maddeye zarar vermektedir. Oksijen radikalleri birçok enzimatik reaksiyonun ve biyolojik fonksiyonların oluşması için gerekli moleküllerdir (Diplock, 1998). Serbest radikallerin yapımındaki artış ve meydana getirdiği hasarı önlemek için vücudun savunma mekanizmaları olarak görevli elemanlar "antioksidanlar" olarak adlandırılır (Buga ve ark., 1989).

SOD enzimi özellikle süperoksit radikallerine karşı önemli bir savunma sağlayan antioksidan enzimdir. Antioksidan sistemdeki görevi süperoksit radikalini hidrojen peroksite dönüştürmektir (Zejnolovic ve ark.,2009). Glutasyon peroksidazlar hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitleri su ve oksijene dönüştüren antioksidan enzimlerdir. Hidrojen peroksiti yıkarak lipit peroksidasyonunun başlamasının önlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Türkiye Klinikleri, 2012). Paraoksonaz 1, karaciğerde sentezlenir ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ilişkilidir. PON kardiyovasküler sistemdeki koruyucu etkisini düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)'in oksidasyonunu engelleyerek ve okside olmuş LDL üzerindeki okside lipitleri yıkarak yapmaktadır (Türkiye Klinikleri,

2012). Lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA oksidatif stresin bir göstergesidir (Mersin üniv. Sağlık Bilim Dergisi,2009). NO, nitrojen ve oksijenin her birinin bir atomundan oluşmuş küçük bir moleküldür. NO oldukça reaktif, yarılanma ömrü 2-30 sn olan radikal bir molekül olup, sinyal iletdikten sonra spontan olarak nitrite dönüşür (Kocatepe Tıp Dergisi, 2001). Proteinler hidroksil radikalının etkisiyle oksidatif stres ürünleri ile oksidasyona uğrarlar ve bunun sonucunda proteinlerin parçalanmasına ve enzim aktivitesinde azalmaya neden olurlar (Türk Biyokimya Dergisi, 2010).

Multiple sklerozun patogeneğinde oksidatif stresin etkisi olduğu ile ilgili gittikçe artan sayıda çalışma vardır (Bosn, 2011). MS hastaları oksidatif hasara sağlıklı kişilere göre daha duyarlıdır. Diğer yandan TAS seviyelerinin kontrollere göre azaldığı bilinmektedir (Bosn, 2011). 2013 yılında yapılan bir araştırmada B. Ferreira ve arkadaşları; hastanın yaşı ve oksidatif stres belirteçlerinin düzeyleri arasında bir ilişki olduğu sonucuna varmıştır (Ferreira ve ark., 2013). 2013 yılında yapılan çalışmada ise Kurban ve ark. MS hastalarında serum NO seviyelerinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğunu bulmuştur (Kurban S. ve Akpınar, Z. 2013). 2012 yılında yapılan başka bir çalışmada M.Adamczyk ve arkadaşları MS hastalarından alınan BOS sıvısı ile çalışmış olup; MS hastaları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında serum MDA düzeyinin MS hastalarında kontrol grubuna göre önemli bir artış olduğunu ortaya çıkarmıştır (Adamczyk, M. ve Sowa, P. 2012). 2011 yılında Hadzovic ve arkadaşları ise MS hastalarında serum TAS düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmış olarak bulmuştur.

Yapılan çalışmalarda inflamasyon ve demiyelinizasyon patogeneğinde oksidatif stresin önemli bir rolü olduğu belirtilmiştir. Bizde bu çalışmada, MS hastalarında antioksidan enzimler olan PON, SOD, GPX ve oksidatif stresi gösteren MDA, PC ve NO düzeylerinin hastalığın etiyopatogeneğine katkıda bulunup bulunmadığını inceleyeceğiz.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.MULTİPLE SKLEROZ

2.1.1.TARİHÇE

MS yaklaşık 150 yıl önce tanımlanmıştır. Pek çok hekim tarafından "MS" olarak adlandırılan MS hastalığına, İngilizler 'disseminated sclerosis', Fransızlar ise 'sclerose en plaques' adını verir. En dikkat çekici hastalıklardan biridir ve genç erişkinleri etkileme eğilimi dolayısı ile en önemli hastalıklardan biridir (Ropper A. ve Brown R., 2006). Hastalık ilk olarak 1824'te Charles Prosper Ollivier tarafından yayınlanmış, 1838'de Robert Carswell ve 1842'de Cruveilhier MS plakları ve patolojik bulgularından söz etmişlerdir (Murrayve Robert Carswell, 2009). Jean Martin Charcot, hastalığın farklı ve özgün bir tablo olduğu konusunda en önemli rolü oynamış, hastalığın klinik spektrumu ve histolojik görünümünü tanımlamıştır. 1854'te Rudolf Virchow myelin kılıfı bulmuştur. Pierre Marie 1884'de ilk kez MS'in infeksiyöz bir nedeni olabileceğini öne sürmüştür ve bu hipotez hala tartışmalıdır. Ardından 1920'lerin sonlarında Ranvier tarafından oligodentrositler ve ranvier düğümleri bulunmuştur. 1935'de Rivers, demiyelinizan hastalıkların anlaşılmasında önemli bir adım olan deneysel otoimmün ensefalomyelit'i (EAE) tanımlamıştır. 1960'da Kabat ve arkadaşları oligoklonal bantların MS teşhisinde kullanılmasına başlamıştır (Eraksoy ve Demir A., 2011). 1965 yılında Schumacher, hastalığın ilk olarak tanı kriterlerini belirlemiştir. Daha sonra 1970 yılında Adrenokortikotropik Hormon (ACTH) tedavisinin akut atakta iyileşmeyi hızlandırdığı gösterilmiş ve 1980' li yıllarda immunsupresif tedaviler gündeme gelmiştir (Miller ve Lublin FD,2003).

2.1.2. EPİDEMİYOLOJİ

MS semptomları genellikle 20 ile 40 yaş arasında başlar (Ropper A.ve Brown R.,2006). Semptomların 15 yaşından önce ve 50 yaşından sonra başlaması nadirdir (Mc Graw-Hill, 2000). Kadınlarda görülme olasılığı erkeklerdekinin yaklaşık 2 katından fazlasıdır. Çocuklarda ise daha nadir görülür (Ropper A. ve Brown R., 2006). MS, coğrafik dağılım gösteren bir hastalıktır; sıcak bölgelerde nadir görülür. Görülme sıklığı ekvatoradan uzaklaştıkça artar (Eraksoy ve Demir A., 2011). MS için yüksek riskli bölgeler; Kuzey Avrupa'nın çoğu, Kuzey Amerika, Güney Kanada, Güney Avustralya ve Yeni Zelanda'dır (Rowland P., 2008). En yüksek görülme sıklığı 250/100.000 ile

Orkney adalarındadır (Oksenberg JR., 2000). Daha az riskli bölgeler; Kuzey Avrupa, Güney Amerika, Anadolu, Orta Doğu, Hindistan, Kuzey Afrika bölgeleri ve Güney Afrika'dır. Bu bölgelerdeki görülme sıklığı 5-30/100.000'dir. Az riskli bölgeler ise; Japonya, Çin ve Latin Amerika'dır. Bu bölgelerdeki hastalık görülme sıklığı 5/100.000'den daha azdır (Rowland P.L, 2008). Ülkemizde MS epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalar hala sürdürülmektedir, fakat komşu ülkelerdeki görülme sıklığına uyan değerlerin elde edileceği tahmin edilmektedir (30-40/100.000) (Türk Ü. ve ark., 2006). İstanbul Maltepe'de MS prevalansının araştırıldığı bir çalışmada prevalans 101 /100.000 olarak bulunmuştur (Türk Ü. ve ark., 2006).

MS'de oldukça fazla göç çalışması mevcuttur. Prevalansın yüksek olduğu yerden düşük olduğu bölgelere göç edenlerde hastalığın görülme sıklığı göç edilen bölgeyle uyum sağlamaktadır (Ascherio A.ve Munger L., 2010).

2.1.3.ETYOLOJİ

MS'in nedeni henüz tam olarak açığa bilinmemektedir. Genetik yatkınlık, immün sistemini baskılayan mekanizmalar ve viral enfeksiyonlar nedenleri arasında rol alabilir (Sadiq SA. ve Mille J. 1995).

Hastalığıdaki ailesel görünüm genetik faktörlerin rolünü desteklemektedir. Hastaların birinci derece akrabaları için risk %3-5, ikinci ve üçüncü derece akrabaları için %1.5-2.5 olarak açığa çıkmıştır. Yapılan çalışmalarda tek yumurta ikizlerinde MS görülme riski %25.9, çift yumurta ikizlerinde %2.4 olarak saptanmıştır (Sadovnick ve ark., 1993).

2.1.3.1. Aile Çalışmaları

MS'li hastaların yaklaşık %15'inin ailesinde veya akrabalarından en az birinde hastalık öyküsü bulunmaktadır (Sadovnick ve Baird PA., 1988), (Compston DAS.ve Sadovnick, 1988). Bu oran Türkiye'deki epidemiyolojik çalışmalara göre %3-4 civarındadır (Eraksoy M. ve ark., 2002).

MS'in kalıtsal yönü ikiz çalışmaları ile de ortaya çıkmıştır. Monozigot ikizlerde sıklık %25-30, dizigot ikizlerde %2-4 olarak bulunmuştur (Stephen, 2008). Genetik etkinin en etkin şekilde ortaya konabileceği ikiz çalışmalarında bile her iki

kardeşin hasta olma durumu monozigot ikizlerde yaklaşık olarak %24 düzeyindedir. Bu durum dizigotlarda ortalama %4'tür (Haegert DG. ve Marrosu MG., 1994).

2.1.3.2. Cinsiyet farklılıkları

İmmün sistem hastalıklarının birçoğu kadınlarda daha sık görülmektedir. Birçok çalışmada MS'in kadınlardan erkeklere göre yaklaşık 2 kat daha sık görüldüğü belirtilmiştir (Duquette P., 1992). Bunun altında yatan sebep bilinmemekle birlikte hormonal faktörlerin bunda rol oynadığı belirtilmektedir. Sıklığın dışında cinsiyetin ayrıca hastalık seyrini de etkilediği birçok çalışma ile açığa çıkmıştır. Erkeklerde hastalık daha ağır ilerlemekte olup, kadınlarda ise hastalık daha hafif seyretmektedir (Hensiek ve ark., 2002).

2.1.3.3. Göç çalışmaları

MS'in genetik özelliklerini ortaya koyan başka bir bilgi de göç çalışmalarından meydana gelmiştir. Bu çalışmalar yetersiz birey sayısı, demografik verilerinin az oluşu gibi nedenlerle eleştirilmiş olup, aynı zamanda önemli bilgiler vermektedir. Bu konuda yapılan ilk çalışma Avrupa'dan güney Afrika'ya giden beyaz ırk'da yapılmıştır (Dean, 1967). Bu çalışmada Güney Afrika'ya göç eden beyazlardaki MS sıklığı oradaki halka göre daha fazladır. Güney Afrika'da doğan ikinci kuşak beyazlardaki hastalık görülme sıklığı her iki grubun arasındadır. 14 yaşına kadar göç etmiş bireylerdeki hastalık görülme sıklığı 13:100.000 iken, 15-19 yaş arasında göç etmişlerde bu sıklık 51:100.000 olarak belirlenmiştir. Bu bulgular ergenlikten sonra göç edildiğinde, köken alınan ırka ait özelliklerin göç sırasında taşınmasına rağmen, ergenlikten önce göç edildiğinde bu özelliklerin başka etkenlerce farklılaştırıldığını ortaya çıkarmaktadır (Dean ve Kutzke JF., 1971)

2.1.4.PATOGENEZ

MS lezyonlarının temel özelliği, aksonun korunduğu, myelin kılıfının zararı ile seyreden myelin kaybıdır. Bunun yanı sıra gelişen aksonal bozulmanın, nörolojik sakatlığın temel nedeni olduğu görülmektedir. Bu yönüyle MS; inflamatuvar, demyelinizan ve nörodejeneratif bir rahatsızlıktır (Trapp BD, 2009).

Akut ve kronik lezyonlarda şu olaylar gözlenir;

- Kan-beyin bariyeri (KBB) hasarı ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu,
- Oligodendrosit hasarı ve demyelinizasyon,
- Astrositoz,
- Akson hasarı,
- Sınırlı remyelinizasyon (Kieseier BC.ve ark.,2005).

MS’de görülen başlıca patolojik değişiklikler:

Çok sayıda, sınırları keskin, yuvarlak, oval veya düzensiz şekilli plaklar görülür. Lezyonlar değişik yaşlarda görülebilir. Yeni ve eski lezyonlar ile aktif ve aktif olmayan alanla aynı anda görülebilirler. Makroskopik ve mikroskopik bulgular, plağın yaşına ve aktif olup olmamasına göre farklılaşır (Türkiye klinikleri nöroloji, 2004).

Histopatolojik incelemede 4 farklı grup MS plağı ayırt edilir:

- Kronik plak
- Kronik aktif plak
- Akut plak
- Gölge plak (Ellison ve ark., 2004).

2.1.4.1. Kan-Beyin Bariyeri (KBB)

Kan-beyin bariyeri endotel hücreleri, perivasküler makrofajların oluşturduğu karmaşık bir yapıdır. T hücreleri KBB yıkımını başlatan ve beyin parankimi içine aktive lökosit girişini sağlayan süreci başlatırlar (Corrale J.ve Villa A., 2007). MSS’ ye lökosit girişi için en önemli yol KBB yoluyla kandan perivasküler aralığa geçiştir (Man S.ve ark.,2007). KBB’yi geçen lökositlerin transendotelial migrasyonları, selektinler ve ligandları, integrinler, endotelial hücre adhezyon molekülleri, kemokinler ve matri metalloproteazların (MMP) yardımıyla olur. Lökositler tutunup, endotelial bariyerden geçtikten sonraki adım, bazal membranların degradasyonuna ve yeniden biçimlendirilmesine aracılık eden proteazların ekspresyonudur (Lucchinetti ve ark., 2003).

Proinflamatuvar sitokinlerin artışı ile nitrik oksit sentaz (iNOS) artışı saptanmıştır. NO ve serbest radikallerin sentezi ile sonuçlanan bu olay da MSS’ de

toksik etkiye sahiptir. NO'nun invitro olarak aksonlarda hasara sebep olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak myelin ve oligodendrositler zarar görür ve demyelinizasyon oluşur. MS lezyonlarında demyelinizasyon alanlarındaki makrofajlarda da normalde olmayan iNOS aktivitesinin fazla olduğu saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda MS hastalarının BOS (beyin omurilik sıvısı) ve serumlarında NO ve serbest radikal düzeyleri, kontrollere göre anlamlı derecede yüksek görülmüştür (Yuçeyar N.ve ark.,2001).

2.1.4.2. Miyelinizasyonun Düzenlenmesi

Nöronlar oligodendrositlerin çoğalması ve fonksiyonlarının sürekliliği üzerinde etkilidirler (Edgar JM. ve Garbern J., 2004). SSS'nde, aksonun bulunmadığı durumlarda oligodendrositlerde miyelin gen üretimi artmakta, ancak gen üretiminin zirve seviyelere ulaşabilmesi ve miyelin yapısının oluşabilmesi için aksonal etkileşime ihtiyaç duymaktadır (Imitola J. ve ark., 2002).

2.1.4.3. Demiyelinizasyon Mekanizmaları

Aktif MS lezyonlarının patolojik olarak incelenmesi, demiyelinizasyon gelişiminde değişik oluşumların varlığını ortaya çıkarmıştır. Lezyonların büyük bir kısmında T lenfosit ve makrofajlardan oluşan inflamatuvar reaksiyon oluşmasına rağmen, oldukça farklı miyelin yıkılım modelleri vardır. Bu bulgulara göre, MS'de dört farklı immünopatolojik model öne sürülmüştür (Lassmann ve ark.,2001).

2.1.4.4. Akson Dejenerasyonu

MS hastalarında kalıcı hasarların en önemli nedeni akson hasarıdır (Compston ve Coles A., 2002). Myelin hasarı başlayana kadar aksonların korunması kalıcı nörolojik sekellerin ortaya çıkmasını önleyebilir (Giulini F.ve Yong VW., 2003). Akson hasarı, miyelin kaybına oranla geri planda kalsa da hastalığın erken döneminde başlar ve fonksiyon kaybına neden olur (Miller ve ark., 2003).

2.1.5.MULTİPLE SKLEROZ TİPLERİ

MS'in her çeşidi hastalığın ilerleyişini farklı şekilde etkiler.

- 1- Relapsing Remitting Multiple Skleroz (RRMS): Hastaların %85'i bu tiptedir. Akut ataklar sonrasında tam iyileşme olur ya da hafif sekel kalabilir.
- 2- Sekonder Progresif Multiple Skleroz (SPMS): RRMS tipinde başlar. 3 ya da daha çok atak sonrası devamlı bir kötüleşme izlenir.
- 3- Progresif Relapsing Multiple Skleroz (PRMS): Ataklar halinde seyrederek ve sürekli bir kötüleşme söz konusudur
- 4- Primer Progresif Multiple Skleroz (PPMS): Hastaların yaklaşık %15'i başlangıçta atak olmadan ilerler (Ardıç, 2005), (Cooperman, 1999), (Oğul E., 2002).

2.1.6. TANI KRİTERLERİ

1- MRG (Manyetik Rezonans Görüntüleme): Beyin MRG'si MS için en iyi incelemedir. Klinik olarak kesin MS'li hastalarda beyin MRG'sinde patolojik bulgu saptanır.

2- BOS incelemesi: T lenfositlerinde azalma, Ig G (immüglobulin G) de artma görülür.

3- MRS(Manyetik Rezonans Spektroskopisi): MS hastalarının lezyon gösteren veya göstermeyen ak maddesinde oluşan biyokimyasal farklılıkları belirlemede kullanılır.

4- Myelografi: Hastalık spinal kordu sardığında kullanılır.

5- Uyarılmış potansiyeller: Kolay, uygulanabilir, ucuz bir yöntemdir. Radyolojik olarak gösterilemeyen hafif plakları saptayabilir.

6- Kan testi: Kan lenfositlerinde özellikle akut dönemde T ve B hücrelerinin dağılımında farklılıklar gözlenir (O'Sullivan, 1994), (Oğul E., 2002), (Öge E., 2004).

2.1.7. KLİNİK ÖZELLİKLER

Klinik olarak MS her hastada değişik seyretmektedir. Bu çeşitlilik hastalığın başlangıç yaşı ve şeklinde, atak sıklığı ve şiddetinde görülmektedir (Sadiq SA, 1995).

Duyusal Belirtiler: MS' in en sık görülen başlangıç belirtilerindedir ve hastaların birçoğunda görülür. Hastalarda negatif duyusal belirtiler olabilir. Kalıcı duyu hasarı ise genellikle alt ekstremitelerde görülür (Lublin FD, 2008).

Motor Belirtiler: Hastalığın ikinci sıklığı olarak görülür. Paraparezi, hemiparezi, monoparezi şeklinde görülebilir. Parezi ile birlikte spastisite, reflekslerde artma ve patolojik refleksler olabilir (Sadiq SA, 1995).

Serebellar Belirtiler: Hasta yaşamını en çok etkileyen belirtilerdir. Serebellar tremor, dizartri, ataksi, nistagmus ve titubasyon en sık rastlanan belirtilerdir. Serebellar bulgularda çoğunlukla tam iyileşme görülmez. Erken başlayan bulgular kötü prognoz göstergesidir (Kurne A.ve Karabudak R., 2004).

Kognitif Belirtiler: Hastaların %50 sinde farklı kognitif işlevlerde bozulma olabilir. RR-MS formunda bu bozulma daha az olmakla beraber tüm MS hastalarında görülebilir (Amato MP. ve ark., 2001).

Konstipasyon ve Diyare: Hastaların birçoğunda otonomik etkilenmeye bağlı görülebilir (Miller AE.ve ark., 2003).

Spinal Kord Belirtileri: Her iki alt ekstremitede artmış tonusla beraber, mesane fonksiyon bozuklukları gibi sık rastlanan spinal kord belirtileri görülür.

Genitoüriner Sistem Belirtileri: Dizüri ve idrar yapmada zorluk gibi şikayetler görülebilir.

Psikiyatrik Belirtiler: MS' de en sık görülen psikiyatrik bulgular depresyon ve bipolar bozukluklardır. Bunlardan farklı aşırı heyecan, aşırı yorgunluk, kişilik değişiklikleri, somatik bozukluklar da görülebilir.

Epilepsi: MS' li hastalarda epilepsi görülme sıklığı %2 ile %7.5 arasında değişiklik gösterir.

Paroksizmal Semptomlar: MS hastalarında nörolojik atakları görülebilir. Sık görülmemekle birlikte MS için olağandır.

Yorgunluk: Hastaların çoğunda genel yorgunluk mevcuttur. Başlangıçta hızlı ve kuvvetlidir. Yorgunluk sıcaklıkla tetiklenir. Hastaların büyük çoğunluğu ısıya karşı çoğunlukla hassastır.

Ağrı: MS hastalarında ağrılı kas spazmları, omurga ağrularına rastlanır. Bununla birlikte hareket etmede güçlük ve şikayetler oluşur (Lublinve Miller AE., 2008).

2.1.8. TEDAVİ

MS tedavi edilmesi gereken bir rahatsızlıktır. Bunun için nörolog, fizyoterapist, psikiyatrist, hemşire ve sosyal hizmet uzmanı yer almalıdır. Günümüzdeki tedavi yöntemleri hastalığın tipi ve klinik dönemine göre değişiklikler oluşturmaktadır.

MS tedavisi 3 çeşittir;

- Semptomatik tedavi
- Akut atak tedavisi
- Koruyucu tedavi

2.1.8.1. Semptomatik tedavi

Kas kasılması için; Baklofen, tizanidine, dantrolen, diazepam gibi ilaçlar kullanılır.

Yorgunluk için; Amantadin, pemolin, metilfenidat, modafinil grubu ilaçlar kullanılır.

MS ile ilişkili ağrı için; Karbamezapin, amitriptilin, benzodiazepinler, gabapentin, lamotrigin, pregabalin, baklofen gibi ilaçlar kullanılır.

Mesane fonksiyon bozukluğu için; Sık idrara çıkıyorsa propantelin, oxybutynin gibi antikolinergik ajanlar; üriner retansiyon varsa, betanekol, self-kateterizasyon gibi ajanlar kullanılır.

Titreme için; Pirimidon, karbamezapin, gabapentin kullanılır.

Konstipasyon için; Diyet tedavisi, laksatifler kullanılır.

Depresyon için; Antidepresanlar kullanılır.

Isı ve egzersiz duyarlılığı için; 4-aminopiridin kullanılır (Lublin ve Miller AE.,2008), (Henze ve ark., 2006),

2.1.8.2. Koruyucu Tedavi

Hastalığın gidişi üzerine etkili uzun dönem tedaviler iki ana başlık altında incelenebilir:

1-İmmunmodülatuar ilaçlar: İnterferonlar (interferon β -1a, interferon β -1b), glatiramer asetat, natalizumab gibi ilaçlar kullanılır.

2- İmmunsupresif ilaçlar: Mitoksantron, siklofosamid, azatioprin, metotreksat türevi ilaçlar kullanılır.

Bu tedavilerle atak sıklığı, atak şiddetinin ortalama %28-35 oranında azaltıldığı görülmektedir (Oğul E., 2002), (Revel M., 2003), (Javed A., 2005).

2.1.8.3. Akut Atak Tedavisi

Her atakta tedavi gerekmebilir. Dikkat edilmesi gereken hastanın günlük aktivitelerini bozan atakların tedavi edilmesidir. Hastalığın atak döneminde tedavi gerektiğinde en sık kullanılan ajanlar glukokortikoidler ve adrenokortikotropik hormondur (ACTH). Günümüzde olan tedavi şekli; günlük 1000 mg metilprednizolon tedavisinin 3-10 gün süre ile verilmesidir (Sadiq SA.ve Miller JR., 1995), (Lublin ve Miller AE., 2008).

2.1. SERBEST RADİKALLER VE REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ

Serbest radikaller en dıştaki atomun yörüngesinde bir veya birden fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, dengeli olmayan moleküllerdir. Çift oluşturmamış elektronlar, serbest radikallere çoklukla reaktiflik kazandırarak protein, lipid, DNA (Deoksiribo Nükleik asit) ve nükleotit koenzimler gibi pek çok biyolojik maddelerde hasara sebep olmaktadır (Diplock, 1998). Serbest radikal oluşumu endojen ve eksojen faktörlerin etkisiyle oluşabilir (tablo-1). Mitokondriyal taşınma ve mikrozomal sistem gibi faktörler endojen kaynaklara örnek olarak gösterilebilir (Greene ve Paller, 1991). Çevresel faktörlere ise hava kirliliği, antibiyotikler, radyasyon ve sigara dumanı örnek olarak verilebilir (Young ve Woodside, 2001).

Serbest radikallerin zararlı etkilerinin yanında vücuttaki birçok doğal mekanizmalar için de gerekli olduğu bilinmektedir. Örneğin; damar gerginliğinin düzenlenmesi ve oksijen basıncının değerlendirilmesi.

Tablo-1. Eksojen ve endojen olarak serbest radikal oluşumuna neden olan kaynaklar (Kuran, 2008)

EKSOJEN KAYNAKLAR	ENDOJEN KAYNAKLAR
Antibiyotikler	Mitokondriyal taşınma
Anestetikler	Mikrozomal sistem
Sigara dumanı	Plazma zararları
İskemi	Fagositoz olayı
Hipoksi	Peroksizomlar
İnflamasyon	Çeşitli sitozolik enzimler
Antineoplastik ajanlar	
Hava kirliliği	
Radyasyon	

2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Hidroksil($\cdot\text{OH}$), Alkoksil($\text{RO}\cdot$), Peroksil($\text{ROO}\cdot$), Süperoksit($\text{O}_2^{\cdot-}$), Nitrik Oksit(NO), Hidrojen Peroksit(H_2O_2), Hipoklorik Asit (HOCl), ve Peroksinitrit(ONOOH) organizmadaki başlıca reaktif oksijen radikalleridir.

Zayıf bir oksidan olan süperoksittek başına hücre hasarına yol açmamakla beraber oksidatif strese yol açan birçok reaksiyonu başlatabilir. Haber-Weiss reaksiyonunda süperoksit ve hidrojen peroksit radikalleri, demir iyonu varlığında birleşerek hidroksil radikalini meydana getirirler. Antioksidan bir enzim olan SOD yıkılmasıyla süperoksit radikalinden hidrojen peroksit ve 20 oksijen meydana gelir. Hidrojen peroksit, ortamda Fe^{+2} veya Cu^{+2} varlığında Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikaline dönüşür. Diğer bir ROT olan hidroksil radikali ise organizmadaki güçlü bir serbest radikaldir. Başta lipidler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere birçok hücrel molekülle reaksiyona girebilmektedir (Dizdaroğlu M., 1993).

Fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde rolü bulunan hipoklorik asit ise organizmada myeloperoksidaz reaksiyonu ile oluşur ve protein karbonil bileşiklerinin yapımını tetiklediği bildirilmektedir (Dalle-Donneve ark., 2003).

2.2.2. Reaktif Nitrojen Türleri (NO , NO_2 , NO^+) Nitrik oksit düşük dozlarda toksik değildir. Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir ve diğer serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturur; ayrıca OH radikalinin oluşumuna yol açtığı da düşünülmektedir.

Peroksinitrit radikali, endotel hücre disfonksiyonu ve ateroskleroz, hipertansiyon ve diyabet gibi hastalıklarda rol aldığı bilinmektedir (Cross ve ark., 1987).

2.2.3. SERBEST RADİKAL ÜRETİM KAYNAKLARI

Vücutta meydana gelen reaktif oksijen türlerinin temeli normal oksijen metabolizmasıdır. Mitokondride ATP (Adenozin trifosfat) üretimi sırasında kullanılan oksijenin %1-5 kadarı süperoksit radikali yapımı ile sonlanır.

Kimyasal ajanların serbest radikal oluşturmadaki en önemli mekanizmaları ise endoplazmik retikulumdaki sitokrom P-450 sistemi ile olmaktadır. Burada oluşan serbest radikaller özellikle nükleik asitlere bağlanarak zararlı etki oluşturabilirler.

Serbest radikallerde başka bir yol ise araşidonik asit metabolizmasıdır. Açığa çıkan prostoglandinler ve lökotrienler gibi proinflamatuvar sitokinler, reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olurlar. Ayrıca ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, NADH oksidaz gibi oksidan enzimlerin aktivitesiyle ve fagositoz sırasında da serbest radikaller meydana gelir (Sies H. ve Groot H.,1992), (Mead J., 1984).

2.2.3.1.Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Serbest radikallerin vücuttaki en önemli etkisi lipid peroksidasyonudur. Peroksidasyona en duyarlı yapılar çoklu doymamış yağ asitleridir (Halliwell ve Chirico S.,1993). Çoklu doymamış yağ asidinden hidrojen atomunun uzaklaşması radikal bir nitelik kazanmasına neden olur ve reaksiyon sonucu lipid peroksit radikali oluşur. Bu radikal diğer yağ asitleriyle beraber yeni lipid radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır. Membran yapılarındaki bu lipidlerin peroksidasyonu sonucu protein ve nükleik asitler zarara uğramaktadır (Winrowve ark., 1993).

2.2.3.2.Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Protein moleküllerindeki sülfidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinin temel yapısında değişmeye sebep olabilir. Membran proteinleri ile reaksiyona giren radikaller, enzim ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarında hasara yol açabilirler (Dalle-Donne ve ark., 2003).

2.2.3.3.Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucunda hidrojen peroksit ve okzoaldehidler oluşur. Diyabet, inflamatuvar eklem hastalıkları ve katarakt oluşumunda bu moleküller de rol oynarlar (Mccord JM., 1993).

2.2.3.4.Serbest radikallerin DNA ya etkileri

Serbest radikallerin DNA üzerindeki etkileri mutasyonlara ve hücre ölümlerine neden olmaktadır. Nitrik oksit ve peroksinitrit nitrazasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler. Sonuç olarak oluşan oksidatif DNA hasarı ve değişimi, kanser ve yaşlanmaya yol açmaktadır (Dizdaroğlu, 1993), (Totter, 1980).

Tablo-2. Serbest radikaller ve neden olduğu reaksiyonlar(Öğüt ve Atay, 2012)

SERBEST RADİKAL	FORMÜL	NEDEN OLDUĞU HASAR
Süperoksit	.O-O-	Fe ²⁺ ve Cu ⁺ iyonlarını geri kazanma yoluyla Haber-Weiss reaksiyonunu katalizleme, hidrojen peroksit veya peroksinitrit oluşumu
Hidrojen peroksit	HO-OH	Hidroksil radikali oluşumu, enzim inaktivasyonu, biyomoleküllerin oksidasyonu
Oksijen	O=O	Çifte bağlarla reaksiyon, peroksitlerin oluşumu, aminoasitlerin ve nükleotitlerin oluşumu
Nitrik oksit	.N=O	Peroksinitrit oluşumu, diğer radikallerle reaksiyon
Peroksinitrit	O=N-O-O ⁻	Hidroksil radikali oluşumu, tiyollerin ve aromatik grupların oksidasyonu, ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza dönüşümü, biyomoleküllerin oksidasyonu
Hipoklorit	ClO ⁻	Amino ve kükürt içeren grupların oksidasyonu, klorin oluşması
Radikal	R.	Hidrojen çıkarılması, radikallerin oluşumu; lipidlerin ve diğer biyomoleküllerin bozunması
Hidroperoksit	R-O-OH	Biyomoleküllerin oksidasyonu, biyolojik membranların bozulması
Bakır ve demir iyonları	Cu ²⁺ / Fe ³⁺	Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarıyla hidroksil radikali oluşumu

2.3. ANTIOKSİDAN SAVUNMA

Serbest radikallerin aşırı üretimini ve oluşabilecek hasarı önlemek için, vücutta savunma mekanizmaları oluşur ve bunlara antioksidanlar denir. Hücrede normal metabolizma ya da patolojik etkilerle meydana gelen serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengeli ilişkinin serbest radikallere dönüşmesi durumunda “oksidatif stres” meydana gelir (Altan ve ark., 2006). Bu dengenin korunması ve oksidatif hasarın engellenmesi için antioksidan sistemler büyük bir yer kaplamaktadır (Buga ve ark., 1989)

Enzimatik olmayan hücre içi antioksidanlar albümin, α -tokoferol, β -karoten, askorbat, transferin, GSH, bilirubin, seruloplazmin, ubikinoller, flavonoidler ve ürik asit gibi çeşitli moleküller bulunmaktadır. Asıl antioksidan savunmayı sağlayan enzimatik yapıda olan antioksidanlardır. Bu enzimler SOD, Glutasyon-S-Transferaz, GPX, Glutasyon Redüktaz, CAT (katalaz) gibi enzimlerdir (Halliwell, 1995).

Antioksidanların oksidanlar üzerindeki etkileri şöyledir;

- 1) Antioksidan enzimlerle ya da doğrudan reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi (toplayıcı etki),
- 2) Vitamin türü gibi antioksidanlar aracılığıyla reaktif oksijen radikallerine bir hidrojen vererek radikallerin aktivitelerini azaltma veya etkisiz hale dönüştürülmesi (bastırıcı etki),
- 3) Hemoglobin, seruloplazmin, mineraller gibi antioksidanlar aracılığıyla serbest oksijen radikallerini bağlayarak zinciri kırması ile radikallerin fonksiyonlarının engellenmesi (zincir kırıcı etki),
- 4) Reaktif oksijen türlerinden etkilenen moleküllerin onarımı (Kuran, 2008).

2.3.1. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Enzim yapısında bulunmayan birçok antioksidan molekül vardır. Bunlardan GSH, GPX enziminin substratıdır. GSH glisin, sistein ve glutamat aminoasitlerinden meydana gelen bir tripeptittir. Antioksidan aktivitesinden sorumlu ve etkin grubu sistein aminoasitindeki sülfidril (-SH) grubudur. Proteinlerdeki sülfidril gruplarını redükte halde tutarak oksidasyondan korur. Böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin

aktive olmasını engeller. Aynı zamanda hidroksil radikali ve singlet oksijen temizleyicisidir (Trenti ve ark.,1992).

Tablo-3. Biyolojik sistemdeki antioksidan koruma sistemi elemanları (Aydın ve ark., 2001)

Enzimatik antioksidanlar	Enzimatik olmayan antioksidanlar
Süperoksit Dismutaz	Vitamin E
Se bağımlı Glutasyon Peroksidaz	Vitamin C
Glutasyon-S-Transferaz	Glutasyon
Katalaz	Flavonoidler
Paraoksonaz	Bütillenmiş Hidroksianizol
Epoksit Hidrolaz	Bütillenmiş Hidroksitoluen
UDP-Glukuronil Transferaz	Ebselen
Sülfonil Transferaz	β karoten
Glutasyon Redüktaz	Ürat
Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz	Seruloplazmin
6-fosfoglukonat dehidrojenaz	Transferrin
İzositrat Dehidrojenaz	Albümin
GSSG ve Konjugat Taşıyıcılar	Haptoglobin
NADPH-Kinon Oksidoredüktaz	Likopen
	Metallotiyonein
	Bilirubin
	Ubikinon
	Deferoksamin
	Melatonin
	Sistein
	Ferritin
	Mannitol
	Oksipürinol
	Probukol

Suda eriyebilen vitaminlerden olan askorbik asit (Vitamin C) bir antioksidan olarak görev yapmaktadır. Süperoksit radikali ve hidroksil radikallerini ortamdaki uzaklaştırabilir. Ancak antioksidan özelliğinin yanı sıra oksidan etkisi de mevcuttur. Çünkü ferik demiri ferröz demire indirgeyen süperoksit radikalının haricindeki tek yapıdır. Bu yönüyle Fenton reaksiyonuna katkıda bulunarak süperoksit radikali oluşumuna fayda sağlar (Aydın ve ark., 2001).

Vitamin A öncü molekülü olan β -karotenden de singlet oksijen, hidroksil radikali, peroksi radikalleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonlarını durdurucu özelliği göstermektedir (Hinds ve ark., 1984).

Güçlü antioksidanlardan biri olan melatonin molekülü hidroksil radikalini ve süperoksit radikalini temizleyici özelliği vardır. Hidroksil radikaliyle reaksiyona girdikten sonra meydana gelen ürün daha sonra süperoksit radikalini de tutar. Sistein aminoasitinin de süperoksit radikali ve hidroksil radikallerini temizleyici görevi vardır (Akkuş, 1995). Plazmada yer alan taşıyıcı proteinlerden olan albümin ise bakır iyonlarını bağlayarak hidroksil radikalini tutar ve lipid peroksidasyonunu önler. Aynı zamanda hipokloröz asit temizleyicisidir (Miura ve ark., 1993).

Enzimatik olmayan antioksidan moleküllerden diğerleri ise demiri yükseltgeyerek Fenton reaksiyonunu önleyen seruloplazmin, haptoglobulin, transferrin, bilirubin, ferritin, mannitol ve probukol gibi moleküllerdir (Aydın ve ark., 2001).

2.3.2. Enzimatik Antioksidanlar

2.3.2.1. Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi dört adet hem grubuna sahip bir hemoproteindir. Beyin, kalp, akciğer ve bağ dokularda daha az olmasına rağmen; karaciğer, böbrek ve erositlerde daha yüksek miktarda ve tüm hücre tiplerinde bulunmaktadır. Hücre içerisinde mitokondri ve peroksizomlarda yerleşiktir. Katalaz enzimi hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştüren bir antioksidan enzimdir (Helmut, 1997). MSS'de tüm hücre tiplerinde olmakla beraber, oligodendrositler daha fazladır (Kim YS. ve Kim SU., 1991).

2.3.2.2. Glutasyon Redüktaz

Okside glutasyonu tekrardan redükte glutasyon haline getiren enzimdir. Bu reaksiyon için NADPH ihtiyacı vardır (Helmut, 1997).

2.3.2.3. Glutasyon-S-Transferaz

Araşidonik asit ve hidroperoksitler gibi lipid peroksidasyonunu engelleyici bir antioksidan enzimdir. GPX gibi selenyum bağımlı değildir. Ancak membran lipid peroksidasyonunu yalnızca fosfolipaz A2 varlığında baskılamaktadır (Oberley, 2002).

2.3.2.4. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD, süperoksit ile moleküler oksijenin reaksiyonunu katalizleyerek hidrojen peroksit oluşumunu sağlar ve oksidatif strese karşı ilk oluşan enzimlerdendir. İnsanda, SOD1, SOD2, SOD3 olmak üzere üç tip SOD enzimi bulunmaktadır (Schreibelt G. ve ark., 2007). SOD1 genel olarak hücrede en çok bulunan SOD çeşididir. SOD enzim ailesinde en son bilinen SOD izomeri ise SOD3 enzimidir. SOD3 enzimi ilk olarak insan plazmasında ve serebrospinal sıvıda saptanmıştır. Hücrede mitokondride yerleşik olan kofaktör olarak mangan iyonunu kullanan SOD2 (MnSOD) enzimidir (Zejnilovic ve ark., 2009).

Tablo-4. SOD izozimlerinin özellikleri (Köse, 2011)

SOD	Yapısı	Metaller	Moleküler ağırlık	Kromozom
CuZnSOD	Homodimer	Cu ve Zn	32	21q22
MnSOD	Homotetramer	Mn	86-88	6q25
ECSOD	Homotetramer	Cu ve Zn	135	4q21

Birçok çalışma SOD enziminin nörodejenerasyon ve nöroinflamasyon sürecinde önemli rolü olduğunu göstermiştir. Alzheimer hastalığı ve inme gibi oksidatif aracılı hastalıklarda SOD'un arttığı bildirilmiştir (Schreibelt G. ve ark., 2007). MS hastalarının beyin dokusundan yapılan bir çalışmada ise anlamlı derecede yüksek SOD1 ekspresyonu aktif demiyelinizan plaklarda gösterilmiştir (Tajouri L, 2003).

2.3.2.5. Glutasyon Peroksidaz

Redükte glutasyonu okside glutatona çevirir. Bu reaksiyonda hidrojen peroksit suya çevirilerek ortamdan uzaklaştırılır. Okside glutasyon ise glutasyon redüktaz ile redükte glutatona çevrilir. Organizmada altı çeşit vardır; MSS'de daha çok glutasyon peroksidaz 1 enzimi vardır. MS hastaları ile yapılan bir çalışmada aktif demiyelinizan plaklarda glutasyon peroksidazın arttığı belirtilmiştir (Jensen G., 1984).

Tablo-5. GPX izozimlerinin bulunduğu dokular ve özellikleri (Köse, 2011)

GPX	Bulunduğu Yer	Yapısı	Selenyum
GPX1	Sitozolik, mitokondriyal	Homotetramer	Var
GPX2	Gastrointestinal yol	Homotetramer	Var
GPX3	Plazma, ekstrasellüler, böbrek	Homotetramer	Var
GPX4	Hücre membranı, sperm, çoğu doku	Monomer	Var
GPX5	Epididimis	Homotetramer	Yok
GPX6	Burun epitelı, embriyonik doku	Monomer	Yok

Tablo-6. GPX izozimlerinin görevleri (Köse, 2011)

GPX1	Hidrojen peroksit ve yağ asit hidroperoksitlerini indirger
GPX2	
GPX3	Zayıf aktivitesi vardır. Kolesterol hidroperoksitlerini indirger.
GPX4	Fosfolipit hidroperoksitlere güçlü, hidrojen peroksitlere zayıf etkilidir.
GPX5	Sperm olgunlaşmasında antioksidan savunmada etkilidir.
GPX6	Burun epitelı ve embriyonik dokularda antioksidan savunmada görevlidir

2.3.2.6. Paraoksonaz (PON)

PON, glikoprotein yapıdadır ve hem arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitesine sahiptir. Paraoksonaz insanlarda PON-1, PON-2 ve PON-3 olmak üzere üç tanedir (Uysal S, 2011). PON, HDL' ye bağlı bir enzim olup dolaşıma giren organofosfatların nörotoksitesinden sinir sistemini koruması, LDL'nin lipid peroksidasyonunu baskılaması, hidrojen peroksit gibi serbest radikalleri nötralize etmesi gibi görevleri

bulunmaktadır. HDL'nin LDL oksidasyonu üzerine koruyucu etkisinin PON'dan kaynaklandığı gösterilmiştir. PON'un serbest radikal oluşumunu ve lipid oksidasyonunu artırdığı gösterilmiştir (Uysal S, ve 2011), (Başkol G, 2004).

Yapılan çalışmalar düşük PON seviyesinin dislipidemi, diabetes mellitus, ileri yaş, sigara içimi, hipertansiyon, nörodejeneratif hastalıklar ve artmış oksidatif stresle ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Senti M.ve ark., 2003).

2.3.2.7. Nitrik Oksit (NO)

NO enzimatik olarak nitrik oksit sentaz enzimi tarafından L-arjinin'den sentezlenir. NO taşıdığı çift oluşturmamış elektron nedeniyle radikal bir molekül olarak isimlendirilir. Yarı ömrü birkaç saniye olmasından dolayı sadece lokal olarak etkindir. Düşük molekül ağırlığı ve lipofilik yapısından dolayı kolay ve çabuk bir şekilde hücre zarlarından geçebilmektedir. NO fizyolojik ve inflamatuvar dönemde pek çok önemli görevi bulunmaktadır ve bu görevler şu şekilde sıralanabilir:

1. Solunum, gastrointestinal, genitoüriner sistemlerde vazodilatasyon için NO-bağımlı mekanizmalarda kullanılır.
2. Merkezi sinir sisteminde hafızanın oluşumunda rol oynamaktadır.
3. Trombositlerin birbirine yapışarak birikmesini önler.
4. Kalp kasılmalarında düzenleyicidir ve iyon kanallarının açılıp kapanmasına katkı sağlar.
5. Sitotoksik özelliğe sahip olduğundan, vücut savunması ve immünolojik reaksiyonlar sırasında aktive olmuş makrofajlar tarafından fazlaca üretilirler (Nussler, 1993), (Alderton ve ark., 2001).

NO'in ROT ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti meydana getirdiği ve bunun da OH radikalinin yapımına sebep olduğubildirilmektedir. OH radikali yıkıcı bir moleküldür (Blokhina O.,2010). Sonuç olarak NO; ateroskleroz, hipertansiyon, şizofreni, otizm ve Diabetes mellitus gibi bazı önemli hastalıklarda rol oynayabilmektedir (Domenech RJ., 1991).

2.3.2.8. Protein karbonil (PC)

Proteinler, radikallerin etkilerine lipitlere oranla daha çok etkilenir. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. (Akkuş, 1995), (Belcherve ark., 2000).

Protein oksidasyonu; hipoklorik asit, hidroperoksit, peroksinitrit, hidroksi ve peroksi gibi serbest oksijen radikalleri türevleri varlığında direkt ve dolaylı birden fazla yolla gerçekleşebilir (Castegna ve ark., 2002). Reaktif oksijen türevlerinin proteinlerle etkileşimi sonucunda, histidin, prolin, arjinin ve lizin gibi çok sayıda protein karbonil ürünleri oluşur (Stadtmanve Levine RL.,2003).

2.3.2.9. Malondialdehit (MDA)

MDA lipid peroksidasyonun en önemli ürünüdür. MDA üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda oluşur. Oluşan MDA iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara sebep olur (Niki 1987), (Placer ve ark.,1990), (Porter, 1984).

MDA, tiobarbitürik asid (TBA) ile belirlenebilen bir lipid peroksidasyon ürünüdür (Knight ve ark., 1988). MDA, kısa zincirli bifonksiyonel bir aldehittir (Horton ve Fairhurst, 1987).

2.4.OKSİDATİF STRESİN MS PATOFİZYOLOJİSİNDEKİ ROLÜ

MS'un etyolojisi tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. Hastalığın başlaması ve ilerlemesinde immunolojik mekanizmalar rol oynamaktadır. Oksidatif stresin bu süreci etkilediği düşünülmektedir. Son yıllarda bu konuda birçok çalışma yapılmış, oksidatif stresin hastalık dönemindeki rolü araştırılmıştır (Gilgun ve ark., 2004).

Hastalığın patolojik sürecinde KBB hasarı ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu, oligodendrosit hasarı ve demiyelinizasyon, aksonal destrüksiyon, sınırlı remiyelinizasyon ve nörodejenerasyon görülür. Hastalığın başlangıcında önemli olan KBBdisfonksiyonu; matriks metalloproteinaz (MMP) aracılı sitokinlerin salınması ile oluşmaktadır. MMP' lerin aktivasyonunda önemli rolleri olan reaktif oksijen radikalleri, lenfositlerin VCAM-1'e (vascular cell adhesion molecule 1) tutunması ile

üretilmektedir. VCAM-1, endotelial hücrelerde NADPH oksidaz enzimini stimüle ederek reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu sağlar. Oluşan reaktif oksijen radikalleri MMP aracılığıyla kan-beyin bariyerinin bozulmasında rol oynarlar. Bozulan kan-beyin bariyerinin; beyindeki inflamatuvar sürecin, oligodendrosit hasarının ve demiyelinizasyonun artmasına yol açtığı düşünülmektedir (Mirshafiey ve Mohsenzadegan M., 2009), (Gilgun ve ark., 2004). Yüksek oksijen içeriği nedeniyle MSS hücreleri oksidatif strese karşı daha duyarlıdır. Oligodendrositler ise, glutatyon gibi antioksidan savunma mekanizmalarının zayıf oluşu ve yüksek demir içeriği nedeniyle oksidatif stresten, diğer MSS hücrelerine göre daha fazla etkilenir (Witherick J.ve ark., 2010).

Hidrojen peroksit hastalığın progresyon sürecinde üretilen myelin yenilenmesini engellemekte ve aksonal hasara sebep olmaktadır. Böylece oksidan moleküllerden biri olan hidrojen peroksitin artışı hastalık dönemindeki kısmi iyileşmeyi engelleyici bir rol oynamaktadır.

Reaktif oksijen radikalleri, ayrıca myeline direkt yoldan lipid ve proteinleri zarara uğratarak, dolaylı yoldan ise MMP üretimini artırarak ve myelin basic protein (MBP) etkiler (Witherick J. ve ark., 2010), (Besler, 2003), (Hunter ve ark., 1985), (Ferretti G.ve ark., 2005).

MS lezyonlarındaki mitokondrial enzim ekspresyonunun incelendiği bir çalışmada, reaktif oksijen radikalleri üretimine sebep olan enzim ekspresyonunun arttığı bulunmuştur. Ayrıca serbest radikal detoksifikasyonunda görev alan glutatyon peroksidaz enziminin de ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Bu durumun artmış oksidatif strese karşı bir mekanizma ile oluştuğu düşünülmektedir. Çalışma sonucunda MS' teki demiyelinizasyon ve doku hasarında oksidatif stresin önemine odaklanılmıştır (Fischer ve ark., 2012).

Yapılan başka bir çalışmada, aktif MS lezyonlarının histolojik incelemesinde, mitokondrial sitokrom c oksidaz-1 kaybı ve mitokondrial ATP üretiminde azalma saptanmıştır (Mahad ve ark., 2008). Kronik lezyonlarda ise mitokondrial aktivitede artış belirlenmiştir. Bu durumun temel nedeninin ise demiyelinize aksonların yüksek enerji ihtiyacı olduğu düşünülmüştür. Mitokondrial disfonksiyon, hastalık sürecine ATP

yetersizliği, apopitoz indüksiyonu ve ROT üretimi ile katkı sağlamaktadır. Bu bilgiler hastalıkta mitokondrial disfonksiyonun önemini vurgulamaktadır (Mahad ve ark., 2008), (Lee ve ark., 2012). Antioksidanlar, eksojen veya endojen olarak üretilen, reaktif oksijen ve nitrojen radikallerinden arınılmasında, radikal oluşumu için gerekli olan bileşiklerdir. Enzimatik antioksidanlar vücutta üretilirken non-enzimatik antioksidanların birçoğu diyetle alınmaktadır. Deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) vakaları ile yapılan birçok çalışmada antioksidanların, hastalık şiddet ve süresinde anlamlı azalmalar yaptığı ortaya konmuştur. Oral N-Asetil Sistein ile yapılan bir çalışmada, intrasellüler glutasyon seviyesini yükselterek akut EAE' de yarar sağladığı, başka bir çalışmada ise intraperitoneal katalaz tedavisinin hastalığın şiddetini azalttığı belirtilmiştir (Gilgun ve ark., 2004), (Lehmann ve ark., 1994).

2013 yılında yapılan bir araştırmada B. Ferreira ve arkadaşları; hastanın yaşı ve oksidatif stres belirteçlerinin düzeyleri arasında bir ilişki olduğu sonucuna varmıştır ve ayrıca GPX aktivitesinin MS hastalarında kontrol grubuna göre azaldığını belirtmiştir. 2013 yılında yapılan çalışmada ise MS hastası ve sağlıklı kontrollerin serum ADMA (Asimetrik Dimetil Arjinin) seviyeleri MS hastalarında kontrol gruba göre daha düşük, NO seviyeleri ise MS hastalarında kontrol gruba göre daha yüksek bulunmuştur. Hastalık süresi ve özürölülük skorları ile NO düzeyleri arasında ve ADMA-NO arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olmadığı belirtilmiştir. Yine 2013 yılında Nazıroğlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; MS hastalarında glutasyon peroksidaz enzimi ve serum vitamin A ve E konsantrasyonları kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur.

Kurban ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, MS hastalarına ait serum total antioksidan seviye (TAS) düzeyi kontrollere göre anlamlı derecede düşük bulunmuş ve bu hastalara ilave antioksidan verilmesinin faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır. 2012 yılında yapılan başka bir çalışmada M.Adamczyk ve arkadaşları; MS hastalarında serum MDA seviyesinde önemli bir artış olduğunu ortaya çıkarmıştır. 2011 yılında Hadzovic ve arkadaşları ise MS hastalarında serum TAS düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmış olarak bulmuştur.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1.Çalışma Grubunun Seçimi

Çalışmamızda Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Nöroloji Polikliniği'ne başvuran, MS tanısı alan, rutin tetkik amacıyla kan vermiş ve aydınlatılmış onamı olan 30 birey hasta grubu olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunu ise MS tanısı almamış, bilinen herhangi bir sistemik ve inflamatuvar hastalığı olmayan 30 birey oluşturmaktadır.

3.2.Örneklerin Toplanması Ve Saklanması

Çalışma için gerekli koşulları taşıyan bireylere çalışmamız hakkında bilgi verilmiş ve 'Aydınlatılmış Onam Formu' imzalatılarak çalışmaya katılmaları konusunda onayları alınmıştır. Çalışmaya katılan bireylerin rutin tetkikler için verdikleri EDTA içeren tüplere alınan kan örnekleri Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Moleküler Biyokimya Laboratuvarında -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.3. Biyokimyasal İnceleme

Alınan kan örneklerinden elde edilen serumda SOD, GPX, MDA, PC, NO düzeyleri spektrofotometrik absorbans ile PON seviyesi ise ELİSA(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemi ile ölçülmüştür.

3.3.1. Serum MDA Düzeylerinin Ölçümü

MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve 90 °C'de tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek pembe renkli kromojen oluşturmaktadır. Oluşan pembe renkli bileşiğin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümüne göre MDA düzeyinin tayini yapıldı (Esterbauer H. ve Cheeseman KH., 1990)

Kimyasallar

% 0,675'lik TBA, %10'luk Trisiklik asetik asit (TCA), Stok standart solüsyonu (1,1,3,3 tetra metoksipropan)

Ölçüm Yöntemi

Kapaklı cam deney tüplerine 2,5 ml %10'luk TCA konulduktan sonra üzerlerine 0,5 ml serum ilave edilerek vorteksle karıştırıldı. Elde edilen karışımların ağızları kapatılarak 90 °C'de 15 dakika inkübasyonda bırakıldıktan sonra soğuk su altında soğutulularak 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Sonra elde edilen süpernatantlardan 2 ml ayrı tüplere alınarak üzerlerine % 0,675'lik TBA eklendi ve tekrar 90 °C'de 15 dakika inkübasyona bırakıldılar. İnkübasyon süresi dolduktan sonra tekrar soğuk su altında soğutulan numuneler, 532 nm'de köre karşı okutuldu. Kör tüpüne numune yerine 0,5 ml distile su konularak aynı işlemler yapıldı.

Hesaplama

$$\text{MDA (nmol/ ml)} = (\text{Örnek OD/Standart OD}) \times \text{Standart Konsantrasyonu}$$

3.3.2. Serum PC Düzeylerinin Ölçümü

PC grubu düzeyleri, protein karbonil gruplarının 2,4-dinitrofenilhidrazin ile reaksiyonu sonucu 2,4-dinitrofenilhidrazon oluşması prensibine dayanarak, spektrofotometrik olarak (370 nm) ölçülmüştür (Slater, 1984).

Kimyasallar

%20 TCA, 10mM 2,4 DNPH (2M HCl'de hazırlandı), 2M HCl Etanol/Etil asetat (1/1), 100 mM NaOH

Ölçüm Yöntemi

0,5 mL numune, 1,5 mL'lik eppendorf tüplerine konularak üzerine 0,5 mL %20'lik TCA eklendi ve vorteksle karıştırıldı. Mevcut karışım 11000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Santrifüj edildikten sonra oluşan süpernatantlar dikkatlice dökülerek pelletleri bırakıldı. Bırakılan pelletlerin her birinin üzerine 10mM 2,4 dinitrofenilhidrazin (2M HCl'de hazırlandı) ilave edildi ve oda ısısında 1 saat bekletildi. Bu süre içerisinde reaksiyon gerçekleşmesi için, her 10-15 dk'da bir numuneler vorteksle karıştırıldı. 1 saat dolduktan sonra numunelerin üzerine 0,5 mL %20'lik TCA

eklendi ve vorteksle karıştırıldı. Sonra 11000 rpm'de 3 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar pelletlerinden dikkatli bir şekilde ayrıldı. Kalan pelletlerin üzerine 1 mL etanol-etil asetat eklenip vorteks ile karıştırıldı ve 10 dk. beklendikten sonra 11000 rpm 3 dk santrifüj edildi. Etanol-etil asetat basamağı numunelere 3 kere tekrar edildi. Bu basamak sonrası elde edilen süpernatant pelletinden ayrıldı ve üzerine 0,9 mL 100 mM NaOH ilave edilip 15 dk 37 °C'de çalkalayıcıda çözdürüldü. Sonra, çözünmeyenleri çöktürmek için 11000 rpm'de 5 dk santrifüj edip, 370 nm'de numuneler köre karşı okundu.

Hesaplama

Protein karbonil düzeyleri nmol/ml olarak hesaplandı. Hesaplamalar sırasında 2,4-dinitrofenilhidrazin için 370 nm'de molar absorpsiyon katsayısı $s = 22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ alındı.

3.3.3. Serum NO Düzeylerinin Ölçümü

Nitrik oksit, üretildiği ortamda çok kısa bir sürede okside olarak önce nitrite (NO_2^-) daha sonrada nitrata (NO_3^-) dönüştüğü için endojen olarak, vücutta üretilen 35 nitrik oksitin doku ve vücut sıvılarındaki miktarı, pek çok çalışmada nitrit ve nitrat olarak belirtilmiştir (Mueller ve ark., 1994). Griess reaksiyonu ile ölçümlerde muhtemel nonspesifik reaksiyonları engelleyebilmek için numuneleri önce deproteinize edip daha sonra nitrit ve nitrat düzeyleri çalışıldı (Malinski ve ark., 1993).

Deproteinizasyondan sonra nitrit ve nitrat miktarları Griess reaksiyonu ile belirlendi (Cortas ve Wakid N., 1990). Total nitrit (nitrit+nitrat) düzeyi modifiye kadmiyum redüksiyon metodu ile belirlendi. Bakır (Cu) kaplı kadmiyum granülleri pH 9,7 glisin tamponunda deproteinize numune süpernatantı ile 90 dakikalık inkübasyona bırakılarak nitratin redüksiyonu sağlandı. Üretilen nitrit düzeyi; sülfanilamid ve buna bağlı N-naftiletlen diamin (NNDA) diazotizasyonu ile reaksiyon sonu oluşan pembe bir rengin spektrofotometrede 545 nm dalga boyunda okunması ile tayin edildi.

Nitrit Standartlarının hazırlanması

0,1 mol/L NaNO₂ (sodyum nitrit) stok solüsyon olup oda ısısında 9 ay süreyle stabildir. Standart solüsyonundan değişik oranlarda dilüsyon yapılarak, standart eğri çizildi.

Kimyasallar Çalışma reaktifi

Sülfanilamid, 5 mmol/L CuSO₄, pH 9,7 Glisin-NaOH tamponu, Kadmiyum granülleri (Cd), N-naftiletlen diamine (NNDA), 0,1 mol/L H₂SO₄ standart solüsyonu (0,1 mol/L NaNO₂, 10 mmol/L Na₂B₄O₇ içinde çözülür.)

Kadmiyumların aktifleştirilmesi

Kadmiyumlar, 20 mililitrelik plastik tüplere (ağız kapatılan) 2,5-3 gr olarak dağıtılır. Kadmiyum granülleri 3 kez deiyonize su ile yıkanır. CuSO₄ solüsyonu içinde 1-2 dakika bekletildikten sonra solüsyon tekrar süzülerek dökülür. 3 kez glisin tamponu ile yıkanır. Aktifleştirilen granüller 10 dk içinde kullanılır. Granüller kullanıldıktan sonra hemen distile su ile yıkanır ve sülfirik asit (H₂SO₄) solüsyonu içinde saklanır.

Ölçüm Yöntemi Deproteinizasyon işleminin yapılması

250 µL numune + 1 mL ZnSO₄ (75 mmol/L) karışımı vortekslenir. Üzerine 1,250 mL NaOH (55 mmol/L) ilave edilip tekrar vortekslenir ve 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Elde edilen süpernatant numune olarak kullanılır.

Glisin tamponu ile yıkanmış aktif granül tüplerinin üzerine 1 mL glisin tamponu eklenir. Üzerine 1 mL deproteinize numune konur ve 2 mL distile su eklenir. Oda ısısında 90 dakika inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda ayrı bir tüpe, 2 mL alınıp üzerine 2,5 ml distile su ve 1 mL sülfanilamid, 1 mL NNDA ilave edilerek tekrar 1 saat inkübasyona bırakılır. İkinci inkübasyon süresi dolduktan sonra 545 nm'de köre karşı okunur. Elde edilen veriler NO metabolitlerinin toplam konsantrasyonunu göstermektedir ve kaydedilir.

3.3.4.Serum SOD Aktivitesinin Ölçülmesi Sun ve arkadaşlarının yöntemi ile Durak ve arkadaşlarının yapmış olduğu modifikasyona göre SOD aktivitesi düzeyi ölçüldü (Durak ve ark., 1993). Bu yöntemde, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen

süperoksitin, nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanarak SOD aktivitesi tespit edilir. Ortaya çıkan süperoksit radikalleri NBT'yi indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Meydana gelen kompleks 560 nm'de maksimum absorbanı verir. Eğer ortamda enzim yoksa bu indirgenme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD varsa NBT indirgenmesi gerçekleşmeyip mavi-mor renk açığa çıkmamakta ve enzim miktar ve aktivitesine bağılı olarak açık renk oluşmaktadır.

$$\text{Enzimin \% inhibisyonu} = (\text{Abs}_{\text{kör}} - \text{Abs}_{\text{num}}) / \text{Abs}_{\text{kör}} \times 100$$

Kimyasallar

400 mmol/L Na₂CO₃, 1 g/L bovine serum albumin, 2 M(NH₄)₂SO₄, 0,8 mmol/L CuCl₂, 150 µmol/L NBT, 0,3 mmol/L xanthine, 0,6 mmol/L EDTA (2 Na tuzu), xanthine oxidase (XO)

Ölçüm yöntemi

Deney tüplerine kimyasallar kullanılarak hazırlanan ölçüm reaktifinden 2,85 mL konuldu. Üzerlerine 0,1 mL numunelerin ekstraktlarından eklendi. Kör tüpüne ekstrap yerine 0,1 mL distile su konuldu. Sonra tüm karışımların üzerine 0,05 mL ksantin oksidaz ilave edilip, hızlı bir şekilde alt üst edilerek karıştırıldı ve oda ısısında 20 dakika inkübasyona alındı. İnkübasyon süresi dolan tüplere bekletilmeden stop solüsyonu olarak 0,1 mL bakır klorür eklendi ve numuneler köre karşı 560 nm'de okundu.

Hesaplama

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(\text{Absorbans kör } \{K\} - \text{Absorbans Örnek } \{Ö\})] / K \times 100$$

% 50'lik inhibisyona 1 U denildiği için

$$\text{Aktivite (U/ml)} = [(\% \text{ inhibisyon}/50) \times (1 / 0,1)] \text{ ml.}$$

$$\text{U/ml} = [(K-Ö) / K] \times 20 \times 5 \text{ (sulandırma faktörü)}$$

3.3.5. Serum GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü

Paglia ve arkadaşlarının yöntemine göre glutatyon peroksidaz aktivitesi ölçüldü (Paglia ve Valentine WN.,1967). Hidrojen peroksit bulunan ortamda GSH-Px redükte

glutasyonun (GSH) okside glutatyonu (GSSG) yükseltgenmesini katalizler. GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. NADPH'in NADP'ye yükseltgenmesi sırasında absorbans seviyesindeki azalmanın, 340 nm'de okunmasıyla GSH-Px aktivitesi belirlenir.

Enzim Ünitesi: NADPH'in birim zamanda okside olan mikromol miktarıdır.

Kimyasallar

50 mM H₂O₂, fosfat tamponu (pH = 7,50 mM), GSH-Redüktaz, 3,2M (NH₄)₂SO₄, 150 mM redükte GSH, 8 mM NADPH, 1 M NaN₃ (Sodyum azid)

Ölçüm yöntemi

Hazırlanan deney tüplerine; 2,650 mL EDTA'lı fosfat tamponu,

0,1 mL redükte GSH,

0,1 mL NADPH,

0,01 mL GSH-Redüktaz,

0,01 mL NaN₃,

0,02 mL numune

Karışımları hazırlanarak 30 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra deney tüplerine 0,1 mL hidrojen peroksit ilave edilip, 5 dakika boyunca dalga boyu 340 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede, numunelerin absorbans değerleri kaydedildi. Aktivite azalışının lineer olduğu absorbans aralığının 1 dakikalık süresi esas alınarak hesaplamada kullanıldı.

Hesaplama

$$IU/L = [(\Delta A/t)/6,22 \times 10^{-6}] \times (1 / 0,02)$$

3.3.6. Serum PON Düzeylerinin ölçümü

Paraoxonase ticari kit kullanılarak ELISA yöntemi ile çalışıldı (Elabscience Biotechnology Co.,Ltd., Wuhan, China). Mikro ELISA pleyti PON1'e spesifik antikor

ile kaplı idi. Standart ve örnekler pleytlere eklenip spesifik antikorla birleştirildi. PON1' spesifik biyotinlenmiş antikor ve HRP konjugat eklendi. İnkübasyon ve yıkama sonrası her bir kuyucuğa substrat solüsyonu eklendi. Sadece PON1, biyotinlenmiş tesbit antikoru ve HRP konjugat içeren kuyucuklarda mavi renk gözlemlendi. Enzim-substrat reaksiyonu sülfürik asit eklenerek durduruldu. Optik dansite spektrofotometrik olarak 450 nm 'de okundu. Optik dansite PON1 konsantrasyonu ile doğru orantılı idi. Standard eğrisi kullanılarak örneklerdeki PON1 konsantrasyonu hesaplandı.

4.İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bulguların istatistiksel değerlendirilmesi IBM SPSS Statistics Version 20.0 paket programı ile yapıldı. Grupların karşılaştırmasında normal dağılım gösteren değerler için bağımsız iki örnek t testi, Kolmogorov-Smirnov testine göre normal dağılım göstermeyen verilerde Mann-Whitney U testi; kategorik veriler için de Ki-kare testi kullanıldı. Bağlantı analizleri Spearman korelasyon katsayıları kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama değerleri \pm standart sapma (SD) ile birlikte verildi. Testlerin tümünde $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi.

5. BULGULAR

Çalışmaya Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji polikliniğine başvuran ve MS tanısı alan 30 hasta ve 30 sağlıklı gönüllü dahil edildi. MS hastası grubunu oluşturan 30 bireyin %53'ü erkek, %49'u kadın olup yaş ortalamaları $40,8 \pm 10,8$ olarak belirlendi. Kontrol grubunu oluşturan 30 bireyin ise %47'si erkek, %51'i kadın olup yaş ortalaması $45,9 \pm 13,4$ idi. Kontrol grubu ve MS grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

Tablo-7. Sağlıklı Kontrollerin ve MS Hastalarının Cinsiyetlerine Göre Dağılımı

	Hasta Grubu		Kontrol Grubu		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Erkek	10	53	9	47	19	100
Kadın	20	49	21	51	41	100
Toplam	30	50	30	50	60	100

Tablo-8. Nicel Değişkenlerin Sağlıklı Kontrol Ve MS Hasta Gruplara Göre Dağılımı

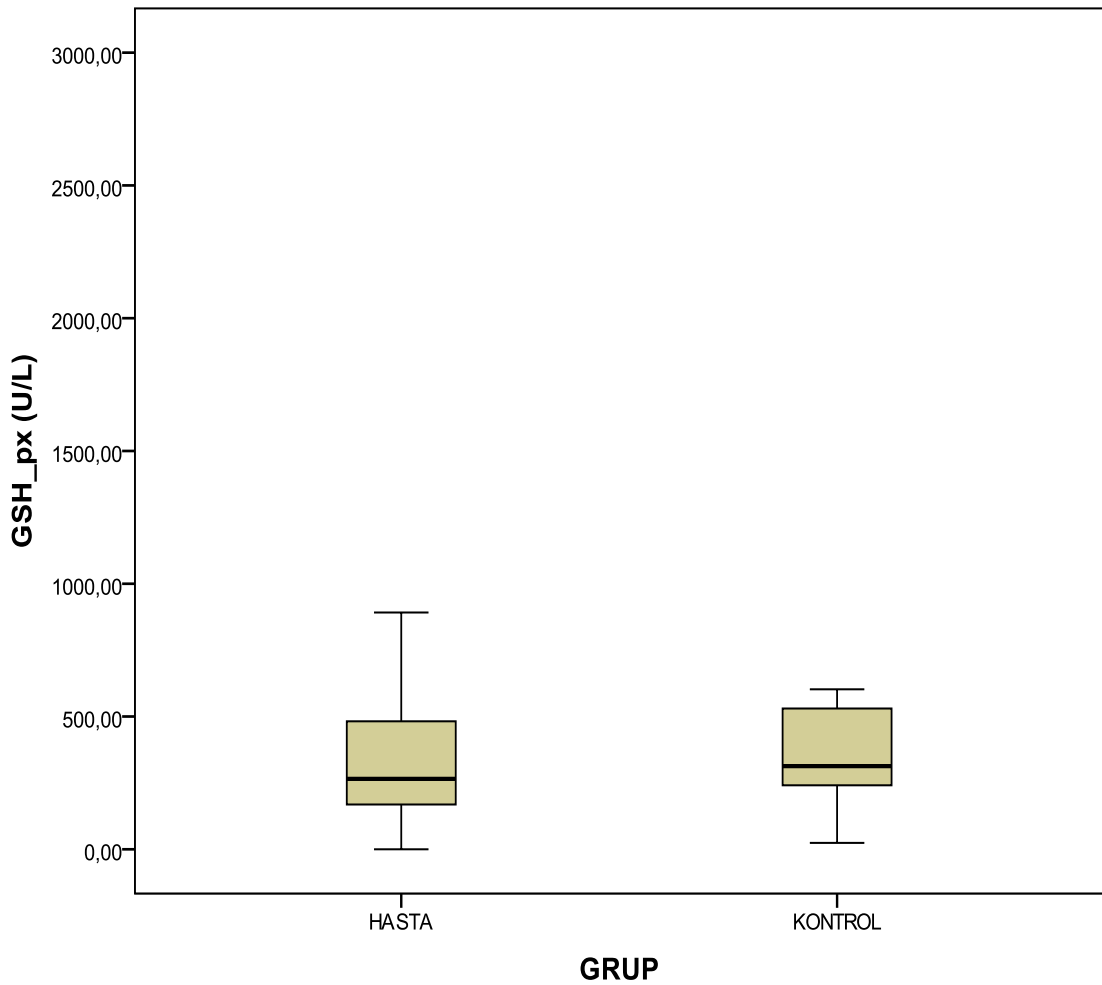
	GRUP		p
	HASTA (n=30)	KONTROL (n=30)	
Yaş	40,83±10,8	45,87±13,43	0,115
Cinsiyet(K/E)	20/10	21/9	0,781
PON	17,81±10,05	11,62±6,45	0,008
SOD (U/mL)	11,67±2,33	9,28±1,72	<0,001
PC (nmol/ml)	129,77±70,79	152,05±61,98	0,200
NO (mmol/L)	49,6±12,25	43,96±8,2	0,041
MDA (µmol/L)	1,81±0,69	1,44±0,5	0,018
GSH_px (U/L)	424,66±411,54	587,54±690,67	0,280

Veriler Ort±SS şeklinde gösterilmiştir.

5.1.Serum GSH-Px Düzeyleri

MS hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, serum GSH-Px aktivitesi MS grubunda azalmış olarak bulunmuştur (Tablo-8). Ancak bireylerin GSH-Px ortalamalarının MS hasta grubu ve kontrol grubu arasındaki farkı istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p=0,280$).

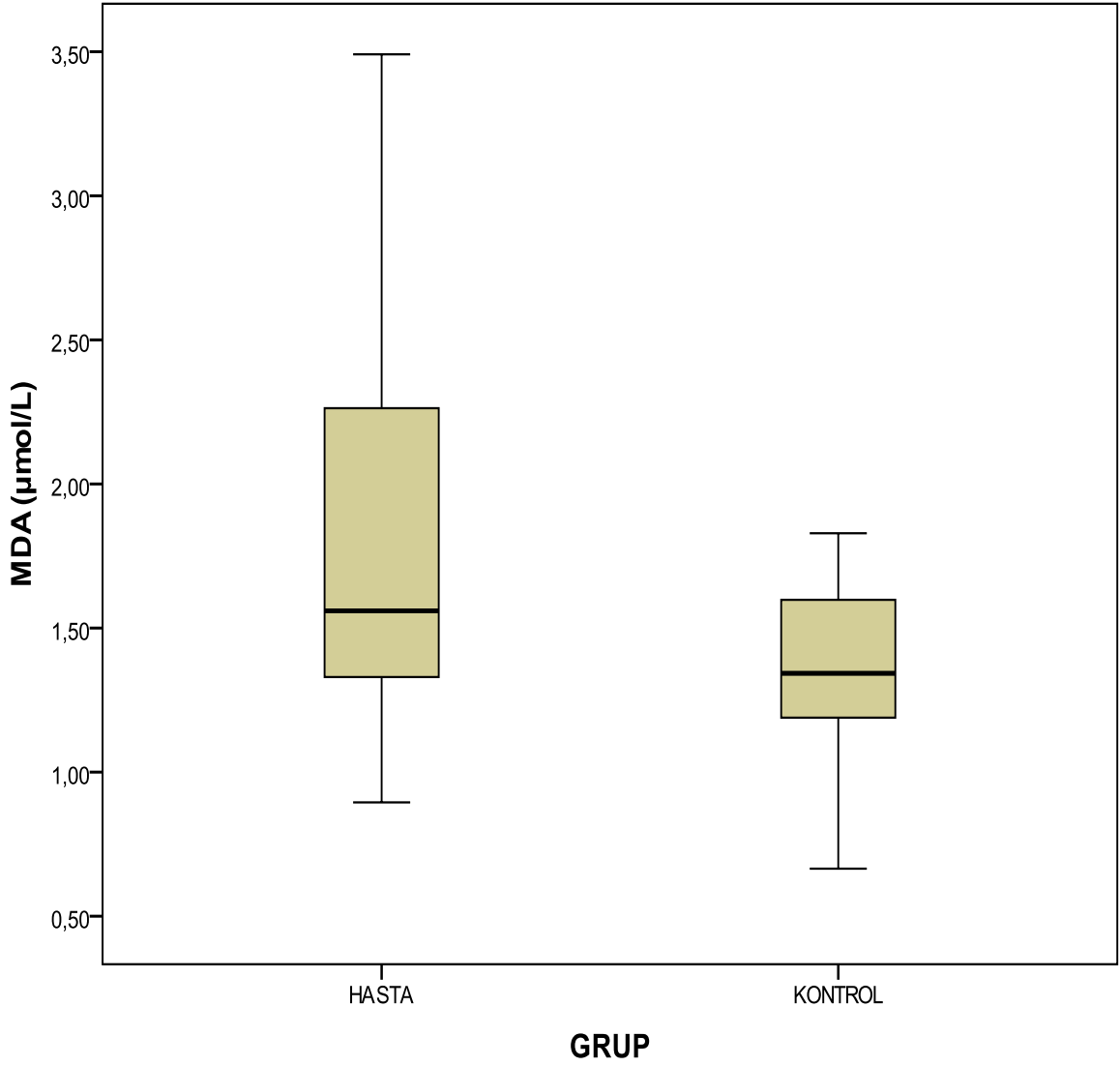
Şekil-1. GSH-PxDüzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre Dağılımı



5.2.Serum MDA düzeyleri

MS hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, serum MDA düzeyi MS grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olarak bulunmuştur (Tablo-8). Bireylerin MDA ortalamalarının MS hasta grubu ve kontrol grubu arasındaki farkı istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. ($p=0,018$).

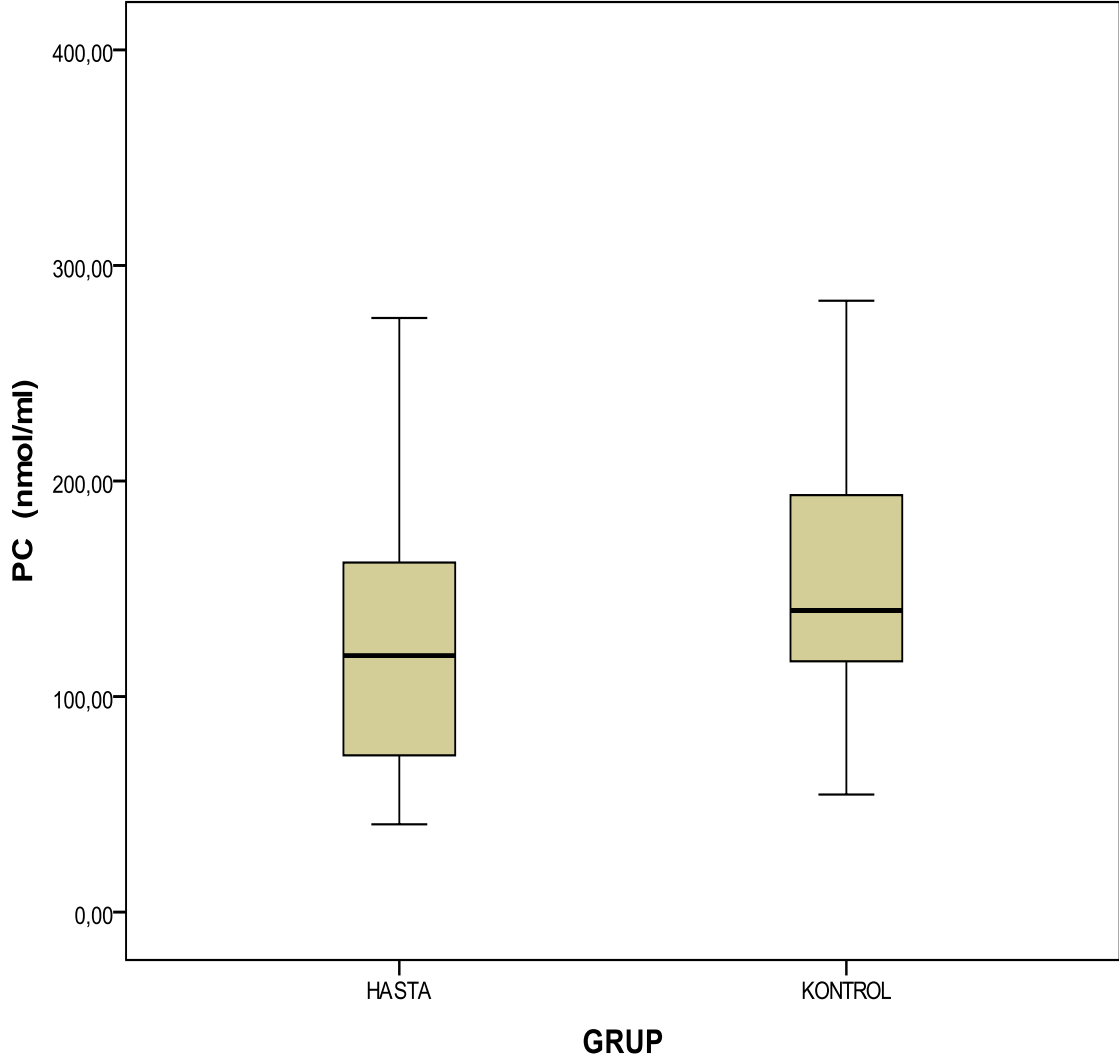
Şekil-2. MDA Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre Dağılımı



5.3.Serum protein karbonil düzeyi

MS hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, serum PC düzeyi MS grubunda kontrol grubuna kıyasla azalmış bulunmuştur (Tablo 8). Ancak bireylerin PC ortalamalarının MS hasta grubu ve kontrol grubu arasındaki farkı istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p=0,200$).

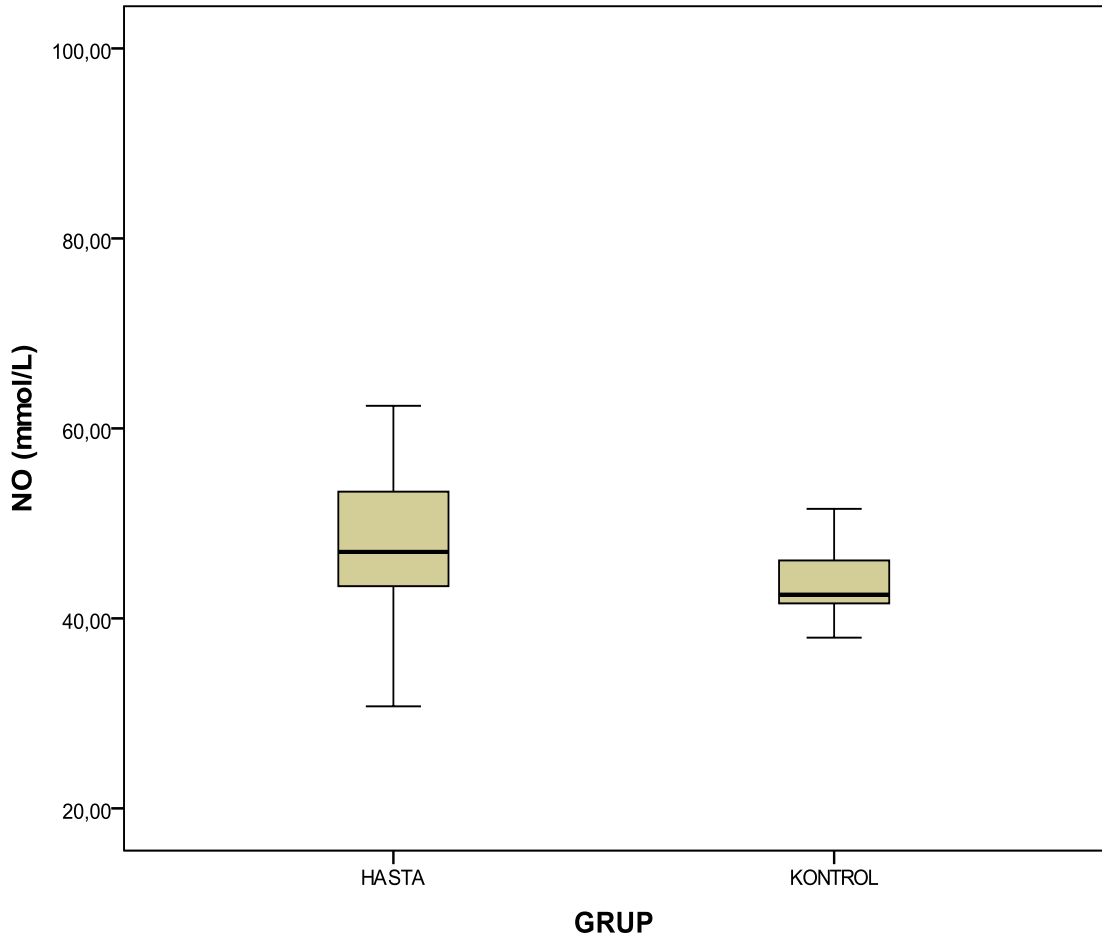
Şekil-3. Protein Carbonyl Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre Dağılımı



5.4.Serum NO düzeyleri

MS hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, serum NO düzeyi MS grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (Tablo-8). Bireylerin NO ortalamalarının MS hasta grubu ve kontrol grubu arasındaki farkı istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p=0,041$).

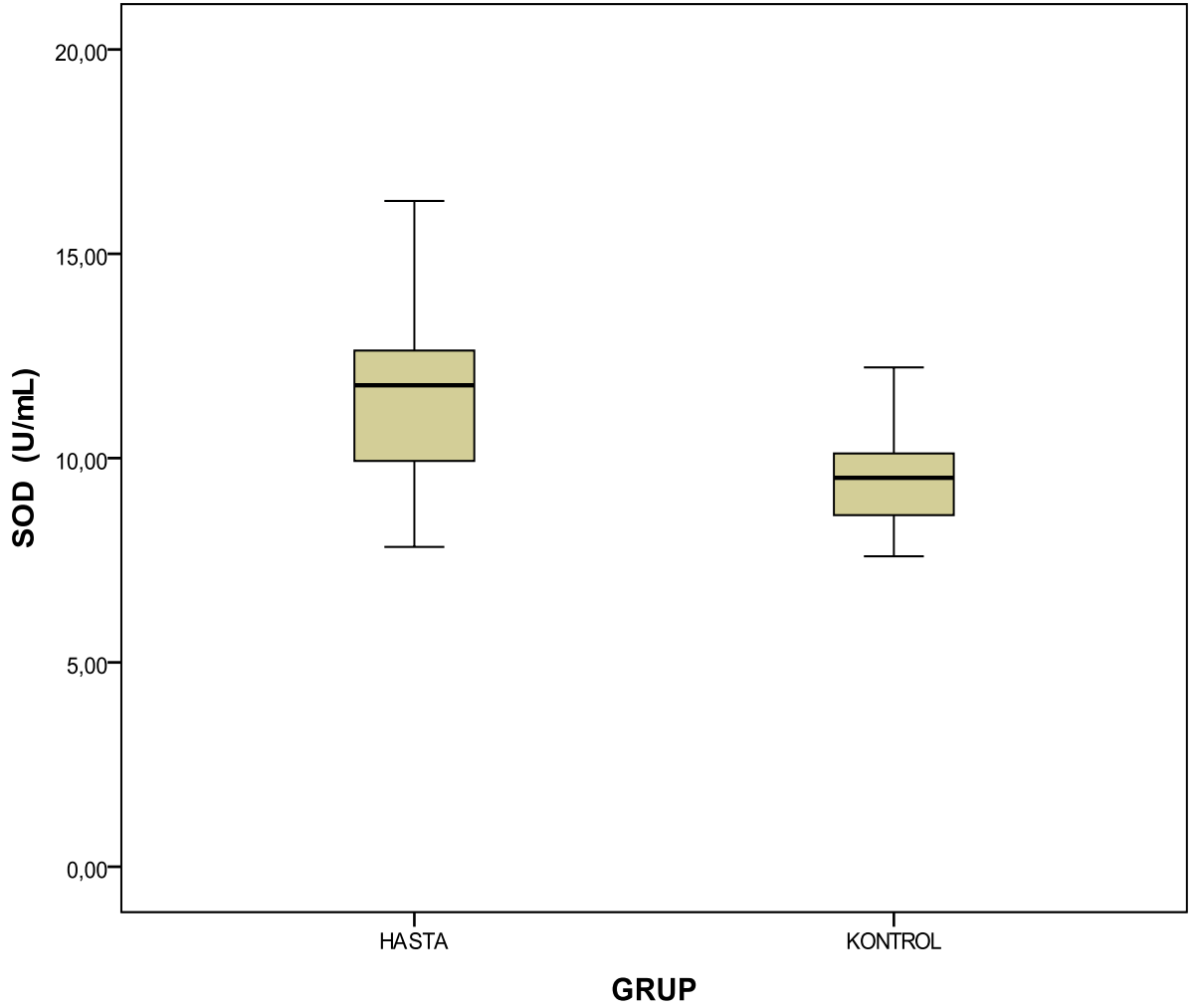
Şekil-4. NO Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre Dağılımı



5.5. Serum SOD düzeyleri

MS hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, serum SOD aktivitesi MS grubunda kontrol grubuna kıyasla artmış olarak bulunmuştur (Tablo-8). Bireylerin SOD ortalamalarının MS hasta grubu ve kontrol grubu arasındaki farkı istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$).

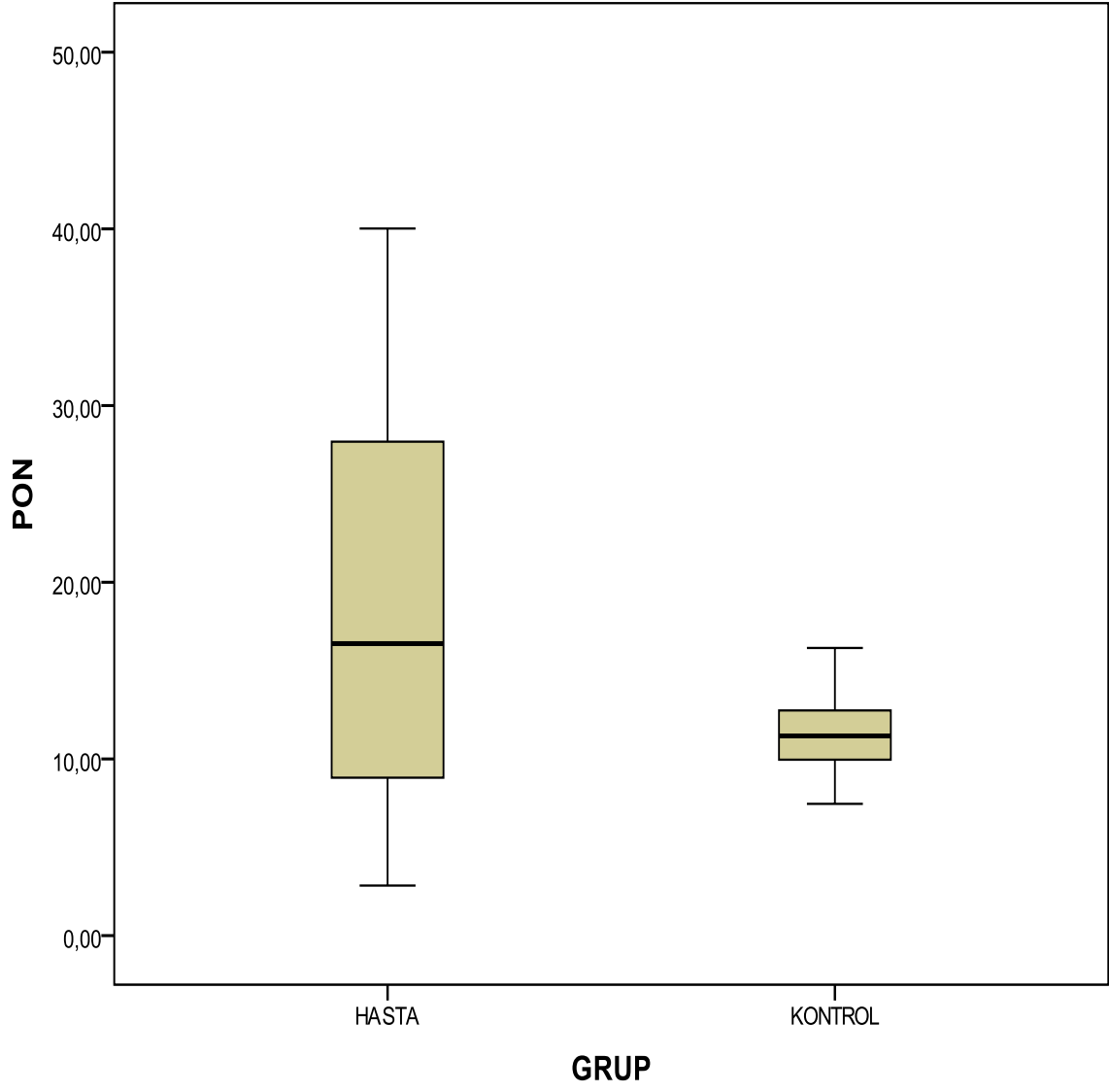
Şekil-5. SOD Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre Dağılımı



5.6. Serum PON düzeyleri

MS hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, serum PON aktivitesi MS grubunda kontrol grubuna kıyasla daha artmış olarak bulunmuştur (Tablo 8). Bireylerin PON ortalamalarının MS hasta grubu ve kontrol grubu arasındaki farkı istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p=0,008$)

Şekil-6. PON Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre Dağılımı



6. TARTIŞMA ve SONUÇ

MS, SSS'nin en sık görülen hastalığıdır. Genellikle genç bireylerde görülen, önemli sorunlara ve iş gücü kaybına neden olan, ilerleyici bir hastalıktır. Epidemiyolojik çalışmalar, hem genetik hem de çevresel faktörlerin MS gelişimine katkıda bulunduğunu gösterse de henüz bu faktörlerin hastalığı başlatmadaki rolleri tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (Ebers, 1983). Genetik yatkınlık, immün sistemini baskılayan mekanizmalar ve viral enfeksiyonlar bu hastalığın nedenleri arasında rol alabilir (Sadiq ve Mille J., 1995). Oksidatif stresin de bu süreci etkilediği düşünülmektedir. Son yıllarda bu konuda birçok çalışma yapılmış olup oksidatif stresin hastalık dönemindeki rolü araştırılmıştır (Gilgun ve ark., 2004).

Normal koşullarda KBB, intravasküler bölüm ve MSS yapıları arasında koruyucu durumdadır. Büyük molekül ve hücrelerin MSS'ye geçişini önleyen bu bariyerin immunolojik mekanizmalarla bozulması sonucu MSS'de proinflamatuvar sitokinler salgılayarak hastalık durumunu başlatabilmektedir (Lublin ve Miller, 2008).

Reaktif oksijen ve nitrojen türleri ile antioksidan savunma sistemleri arasında bir denge söz konusudur ve bu dengenin reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin artması veya antioksidan sistemlerdeki yetersizlik sonucu bozulmasıyla oksidatif stres durumu oluşur. Oluşan serbest radikaller protein, lipid ve nükleik asitlere zarar vererek hücre ölümüne neden olur (Witherick J. ve ark., 2011), (Shah ve Channon, 2004). Reaktif oksijen radikalleri, ayrıca myelindeki lipid ve proteinleri zarara uğratar, MMP üretimini artırır ve MBP'i etkiler (Witherick J. ve ark., 2010), (Besler, 2003), (Hunter ve ark., 1985), (Ferretti G. ve ark., 2005). Bazı çalışmalar MS patogenezinin altında yatan sebep olan ROS'un, myelin fagositozda önemli rol oynadığını bildirir (Ghabaee ve ark., 2010).

Fischer ve arkadaşları, 30'u MS'li ve 18'i nöroloji dışı bir hastalıktan ölüntöplam 48 vakada yaptıkları otopsi çalışmasında; aktif MS lezyonlarında reaktif oksijen radikallerinin yapımından olan mitokondrial enzimlerin ekspresyonunun arttığı belirtilmiştir. En fazla artış myeloperoksidaz (MPO), eozinofil peroksidaz (EPx) ve laktoperoksidaz (LPO) enzimlerinde görülürken ksantin oksidaz enziminde değişiklik görülmemiştir. Ayrıca serbest radikal detoksifikasyonunda görev alan GSH-

Px enziminde de artış saptanmıştır. Bu durumun artmış oksidatif strese karşı bir cevap olduğu düşünülmüştür. İnflamatuar süreçte aktive mikroglia ve makrofajlar tarafından üretilen serbest oksijen radikallerinin mitokondrial disfonksiyona neden olarak ATP üretiminde azalmaya yol açtığı ve oluşan mitokondrial disfonksiyonun da serbest radikal üretimine katkı sağladığı sonucu bulunmuştur. Sonuç olarak yapılan çalışma MS' deki doku hasarında oksidatif stresin önemini ortaya çıkarmıştır (Fischer ve ark., 2012).

Van Horssen ve arkadaşları 18 MS' li hastanın otopsi materyali üzerinde yaptıkları çalışmada, antioksidan enzimler olan SOD, CAT ve hem oksijenaz-1 (HO-1) düzeylerini MS'li hastaların beyin dokusunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır. Bu durumun artmış oksidatif strese karşı bir savunma mekanizması olduğunu belirtmişlerdir (Van Horssen J., 2008). Hunter ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise MS hastaları kontrollerle karşılaştırıldığında BOS' ta lipid peroksidasyon ürünleri anlamlı yüksek saptanırken, plazmada anlamlı fark görülmemiştir (Besler HT., 2003). Seven ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; 20 RR-MS hastası ve 15 sağlıklı kişide BOS ve serumda nitrozatif stres belirteçleri olan 3-Nitrotirozin (3-NT), nitrit ve nitrat seviyeleri bakılmış, bu belirteçler kontrol grubuna göre MS hastalarının serumunda düşük, BOS' da ise daha yüksek saptanmıştır (Seven A. ve ark., 2013). Literatüre göre enzim aktiviteleri normal koşullarda BOS'ta daha fazla görülmüştür. Ancak yeterli çalışma ile desteklenmediğinden nedeni tam olarak bilinmemektedir (Seven A. ve ark., 2013).

Çalışmamıza, MS tanısı almış 30 hasta ve 30 sağlıklı kontrol dahil edildi. Çalışmaya katılan bireylerin serumlarında, antioksidan enzimler olan PON, SOD, GPX ve oksidatif stresi gösteren MDA, PC ve NO parametrelerine bakıldı. Son yıllarda bu konuda birçok çalışma yapılmış ve oksidatif stresin hastalık sürecindeki etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar oksidatif stresin MS patogenezinde önemli rolünün olduğunu vurgulamaktadır (Samet Ö.,2014). Oksidatif stresin, mitokondrial disfonksiyon, ATP azlığı, KBB disfonksiyonu ve glutamat toksisitesi ile myelin yıkımı, oligodentrosit hasarı ve aksonal kayıpta rol oynadığı ifade edilmiştir (Samet Ö., 2014).

Antioksidan bir enzim olan PON, HDL ve LDL' yi lipid peroksidasyonundan korumakta ve hidrojen peroksit gibi serbest radikalleri baskılamaktadır. Organizmada düşük PON aktivitesinin oksidatif hasara katkı sağladığı düşünülmektedir. Jamroz-Wisniewska ve arkadaşlarının 137 MS hastası ve 40 kontrol vakası üzerinde yaptığı bir çalışmada; hastalar ve kontrol grubu arasında serum PON aktivitesi açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır (Jamroz ve ark., 2009). Kurban ve arkadaşlarının 50 MS hastası ve 35 sağlıklı kişide TOS ve PON aktivitesini araştırdığı çalışmada ise hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (Kurban ve ark., 2010). Ferretti ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada iyileşme dönemindeki MS hastaları ile kontrol vakaları karşılaştırılmış; PON aktivitesi hastalarda kontrollere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (Ferretti, 2005). Bizim çalışmamızda ise serum PON aktivitesi, MS grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum bize hücrelerin oksidatif hasardan korunması için geliştirilen bir cevap olabileceğini düşündürmüştür.

Tajouri ve arkadaşlarının 2003 yılında yapmış oldukları otopsi çalışmasında; aktif MS plaklarında süperoksit dismutaz-1 ve glutasyon peroksidaz enzim ekspresyonlarının arttığı saptanmıştır (Tajouri L., 2003). Van Horssen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise SOD-1, CAT ve HO-1 enzimlerinin aktif MS lezyonlarında ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir (Van Horssen J.,2008) ve SOD enziminin oksidatif strese yanıt olarak arttığı sonucuna varılmıştır. Bizde çalışmamızda serum SOD aktivitesini MS hasta grubunda kontrol grubuna göre artmış olarak bulduk. Oksidatif hasarlanmaya karşı SOD ilk savunma hattıdır ve süperoksit anyonunu uzaklaştırır. SOD enziminin MSS' de başlıca mikroglia ve makrofajlarda oksidatif strese cevaben üretildiği belirtilmiştir (Johnson and Giulivi, 2005). Çalışmamızda MS'li hastalardaki SOD aktivitesindeki artışın artmış oksidatif strese karşı oluşan adaptasyon mekanizması olabileceği sonucuna varılmıştır.

Karg ve arkadaşlarının MS' li hastalarda plazma non-enzimatik antioksidan seviyelerine (glutasyon, alfa-tokoferol, retinol, sülfidril grupları ve ürik asit) baktıkları çalışmada; okside glutasyon seviyesini atak dönemde, redükte glutasyon seviyesi ise hem atak hem de remiyon döneminde yüksek bulmuşlardır (Karg ve ark., 1999).2014 yılında socha ve arkadaşlarının 101 MS, 63 sağlıklı kontrol çalışmasında serum GPx aktivitesinin MS grubunda azaldığını ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı

olduğunu açıklamışlardır (Socha ve ark., 2014). Bizde çalışmamızda Socha ve arkadaşlarını destekler nitelikte bir sonuç bulduk ancak serum GPx aktivite azalmasını istatistiksel olarak anlamlı bulamadık. Yapılan çalışmalarda da MS hastalarında GPx'in rolü açık bir şekilde ortaya konulamamıştır.

Keleş ve arkadaşlarının 30 SPMS hastası ve 20 sağlıklı kontrol ile yaptığı çalışmada lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'ya bakılmıştır. Serum ve BOS MDA seviyeleri steroid tedavisi öncesi yüksek saptanmıştır (Keleş ve ark., 2001). Hastaların 5-7 gün arası ortalama 0.5-1 gr metilprednizolon ile tedavi edilmesinden sonra bakılan serum ve BOS MDA seviyelerinde anlamlı düşme görülmüştür. Tedavi sonrası grupla kontrol grubu karşılaştırıldığında serum MDA seviyelerinin benzer olduğu saptanmıştır. Steroid tedavisi sonrası MDA seviyesinin nasıl düştüğü sorusunun aydınlatılması gerektiği sonucuna varılmıştır. 2012 yılında yapılan başka bir çalışmada M.Adamczyk ve arkadaşları; serum MDA düzeyinin MS hastalarındaki seviyesinde önemli bir artış olduğunu ortaya çıkarmıştır (Adamczyk M., 2012). Bizde çalışmamızda serum MDA düzeyi MS grubunda kontrol grubuna kıyasla artmış olarak bulduk. Bu sonuç bize oksidatif stresin MS grubunda arttığını göstermektedir.

2013 yılında Ferreira ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, MS hastalarındaki NO seviyeleri kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur. Hastalık süresi ve özürülük skorları ile NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olmadığı belirtilmiştir (Ferreira ve ark., 2013). Yüksek düzey NO metabolitlerinin KBB bozulması, direkt doku hasarı, aksonal iletimin engellenmesi ve plak oluşumu gibi yollarla MS'un gelişimine katkı sağladığı ifade edilmektedir (Ferreira ve ark., 2013). Bizim çalışmamızda da serum NO düzeyi, MS hasta grubunda kontrol grubuna göre artmış olarak bulunmuştur. Bu sonuç MS hastalarında gelişen oksidatif stresi destekler niteliktedir.

Oliveira ve arkadaşları 2016 yılında 258 MS'li ve 249 kontrol grubuyla yaptığı bir çalışmada PC seviyesinin hasta ve kontrol arasında herhangi bir değişim olmadığını gözlemlemiştir (Oliveira, 2016). Kallaur ve arkadaşlarının 2016 yılında 212 MS hastası ve 249 kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada protein karbonil düzeyini MS grubunda kontrol grubuna kıyasla artmış olarak bulmuştur (Kallaur ve ark.,2016). Bizim çalışmamızda ise serum PC düzeyi MS hasta grubu ile kontrol grubu

karşılaştırıldığında, serum PC düzeyi MS grubunda kontrol grubuna kıyasla azalmış bulundu ancak MS hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı. Bu durumun hasta ve kontrol sayısının yetersiz oluşu, ölçüm yöntemi farklılığı gibi nedenlere bağlı olabileceği düşünüldü.

Yaptığımız çalışma, oksidan ve antioksidan parametreleri bir arada kapsamlı olarak içeren bir çalışma niteliğindedir. Çalışmamız sonuçlarına göre MS'li hastalarda MDA ve NO gibi oksidatif parametrelerin yüksek olduğu görülmüş ve oksidatif stresin MS patogenezine katkı sağlayabileceği düşünülmüştür. PON ve SOD gibi antioksidan parametrelerde görülen artış ise artmış oksidatif strese karşı oluşan adaptasyon mekanizması olabileceğini akla getirmektedir. Bu çalışmada GPx ve PC seviyelerinde anlam bulunamaması, ölçüm yönteminin belirsizliğine ve hasta sayısının yetersiz olmasına bağlı olabilir. Bu sebeple ölçüm yöntemindeki belirsizliğin ortadan kaldırılarak daha çok hasta sayısı ile çalışmanın tekrarlanabileceği, hastaların çevresel faktörlerinin daha detaylı incelenerek antioksidan alınıp alınmaması, hastalık süresi ve hastalık seyri gibi faktörlerin hastalığa etkisinin olup olmadığı göz önüne alınarak daha ileri çalışmalar yapılması kanaatindeyiz.

7. ΔΔKAYNAKLAR

- Adamczyk, M. And Sowa, P. (2012). Journal of physiology and pharmacology department of biochemistry, medical university of Silesia Zabrze, Poland.63.6 683-690
- Africa . British Medical Journal1971: 3; 725-729
- African-born and white immigrants to South Africa. British Medical Journal 1967:2; 724-30
- Akkus, İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 5, 1-3.
- Akkuş İ. Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım, Konya:1995, 1-15
- Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. Biochem J. 2001; 357: 593-615.
- Altan, N., Dinçel, A.S., Koca, C., 2006. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. Türk Biyokimya Dergisi, 31 (2), 51-56.
- Altıntaş A, Benbir G. Miyelinizasyon, demiyelinizasyon ve remiyelinizasyon mekanizmaları. Türk Nöroloji Dergisi 2005; cilt:11 sayı:2 sayfa:123-130.
- Amato MP, Ponziani G, Siracusa G, Sorbi S. Cognitive dysfunction in early onset multiple sclerosis: a reappraisal after 10 years. Arch Neurol. 2001; 58: 1602-06.
- Ardıç FN. Vertigo. İzmir Güven Kitabevi. 2005:3-64 / 133139
- Ascherio A, Munger L.K, 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: epstein-barr virus and multiple sclerosis: epidemiological evidence. 2010 British society for immunology, clinical and experimental immunology, 160:120-4
- Aydın, A., Sayal, A., Işimer, A., 2001. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. GATA Basımevi, 85 s, Ankara.
- Başkol G, Köse K. Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal) 2004; 26 75 (2): 75-80.

- Belcher JD, Marker PH, Weber JP, Hebbel RP, Vercellotti GM. Activated monocytes in sickle cell disease: potential role in the activation of vascular endothelium and vasoocclusion. *Blood*. 2000, 96(7):2451-9. Epub 2000/09/26.
- Besler HT, Comoglu S. Lipoprotein oxidation, plasma total antioxidant capacity and homocysteine level in patients with multiple sclerosis. *Nutr Neurosci*. 2003; 6: 189–196.
- Blokhina O, Fagerstedt KV. Oxidative metabolism, ROS and NO under oxygen deprivation. *Plant Physiol Biochem*. 2010, 48(5):359-73. Epub 2010/03/23.
- Buga, G.M, Gold, M.E., Wood, K.S., Chaudhuri, G., Ignarro, L.J., 1989. Endothelium Derived Nitric Oxide Relaxes Nonvascular Smooth Muscle. *European Journal of Pharmacology*, 161, 61-72.
- Cari nöroloji ve nöro bilim raporları 2005,5:232-238
- Castegna A, Aksenov M, Aksenova M, Thongboonkerd V, Klein JB ve ark. (2002) Proteomic identification of oxidatively modified proteins in Alzheimer's disease brain. Part I. Creatine kinase BB, glutamine synthase, and ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L-1. *Free Radic Biol Med* 33, 562-571.
- Clinical Practise. London-New York. Martin Dunitz Publishing. 2003; 31-53.
- Compston A, Coles A. Multiple sclerosis, *Lancet*. 2002; 359: 1221-1231.
- Compston DAS, Sadovnick AD, Epidemology and genetics of multiple sclerosis
Currnet opinion in Neurology and Neurosurgery 1992: 5; 175-181
- Cooperman L. Multiple Sclerosis: A focus on rehabilitation. 1999:12-15
- Corrale J, Villa A. The blood-brain-barrier in multiple sclerosis: functional roles and therapeutic targeting. *Autoimmunity*, 2007; 40(2):148-60.
- Cortas NK, Wakid N. (1990). Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem*: 36:1440-3.
- Cross CE, Halliwell B, Borish ET, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann. Intern. Med*. 1987; 107: 526-45.

- Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta*. 2003; 329: 23-38.
- Dean G, Aksoy H, Akalin T, Middleton L. Multiple sclerosis in the Turkish- and Greek-speaking communities of Cyprus. A United Nations (UNHCR) Bicommunal Project: *J Neurol Sci*, 1997;145(2):163-168
- Dean G, Kutzke JF. On the risk of the according to age at immigration to South Africa *British Medical Journal* 1971; 3; 725-729
- Dean G. Annual incidence, prevalence and mortality of MS in White South African-born and white immigrants to South Africa. *British Medical Journal* 1967;2;724-730
- Diplock, A., 1998. Healthy Lifestyles Nutrition and Physical Activity: Antioxidant Nutrients. *ISI Europe Concise Monograph Series*. 59 p, Belgium
- Dizdaroğlu M. Chemical Determination of Free Radical-Induced Damage to DNA. *Free Radic Biol Med*, 1993;61:225–242.
- Domenech RJ, Macho P. [Endothelium and coronary circulation]. *Rev Med Chil*. 1991, 119(2):189-96. Epub 1991/02/01. El endotelio y la circulación coronaria.
- Dröge, W., 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function, *Physiol Rev*, 82, 47-95.
- Duquette P. The increased susceptibility of women to multiple sclerosis. *Canadian Journal of Neurological Science* 1992;19:466-471
- Durak I, Yurtarslan Z, Canbolat O, Akyol O. (1993). A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin Chim Acta*; 214:103-104.
- East and West. *Kyushu University Press* 1982;S:149-15
- Ebers GC, Genetic factors in multiple sclerosis. *Neurol Clin* 1:645, 1983.
- Ebers GC, Sadovnick AD. Epidemiology: In Paty DW, Ebers GC (eds), *Multiple Sclerosis*, 1998; 5-28.
- Edgar JM, Garbern J. The myelinated axon is dependent on the myelinating cell for support and maintenance: molecules involved. *J Neurosci Res*. 2004; 76: 593-598.

- Ellison D, Love S, Chimelli L et al. Multiple Sclerosis In Neuropathology. A reference text of CNS Pathology. 2nd edition. Chapter 19. Mosby, Edinburgh, 2004.
- Eraksoy M, Akman-Demir G, and Kıyat-Atamer A, Yapıcı Z, Ozcan H, Demographic and clinical findings in familial multiple sclerosis: a hospital based study. *J. of neurology* 2002;249; (1);113
- Eraksoy M, Akman-Demir G.- MSS Myelin Hastalıkları. İÜTF Nöroloji (2. baskı Ed. Öge AE, Baykan B) pp: 603-629. Nobel yayıncılık, İstanbul, 2011.
- Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal) 24 (1) 40-47, 2002
- Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In *Methods in Enzymology*, V 186, Oxygen radicals in biological systems edited by Packer L, Glazer AN. Academic Press, California, 1990, pp 407-421
- Ferreira, B. , Mendes, F. , Osorio, N. , Caseiro, A. , Gabriel, A. , and Valado, A. (2013). Department of clinical analysis and public health, coimbra health school, polytechnic institute of coimbra, Portugal. *British Journal of biomedical science* 70(2).
- Ferretti G, Bacchetti T, Principi F, et al. Increased levels of lipid hydroperoxides in plasma of patients with multiple sclerosis: a relationship with paraoxonase activity. *Mult Scler.* 2005; 11: 677-82.
- Fischer MT, Sharma R, Lim JL, et. al. NADPH oxidase expression in active multiple sclerosis lesions in relation to oxidative tissue damage and mitochondrial injury. *Brain.* 2012: 135; 886–899.
- Ghabae M, Jabedari B, Al EEN, Ghaffarpour M, Asadi F: Serum and cerebrospinal fluid antioxidant activity and lipid peroxidation in Guillain-Barre syndrome and multiple sclerosis patients. *Int J Neurosci*, 2010, 120, 301–304.
- Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis: the need for effective antioxidant therapy. *J. Neurol.*

2004; 251: 261–268.

Gilroy j. Temel nöroloji. Çeviri Ed.Rana karabudak Ankara. Güneş Kitabevi
2002.s.199-224.

Giulini F, Yong VW. Immune-mediated Neurodegeneration and Neuroprotection in
MS. *The International MS Journal*. 2003; 10.

Greene, El., Paller. M.S., 1991. Oxygen Free Radicals in Acute Renal Failure. *Miner
Electrolyte Meteb*, 17(2), 124-32.

Haegert DG, Marrosu MG. Genetic susceptibility to multiple sclerosis. *Annals of
Neurology*1994;36 (S): S204-210

Halliwell B, Chirico S. Lipid Peroxidation: Its mechanism, measurement and
significance. *Am J Clin Nutr*. 1993; 57: 715-25.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1984. Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition
Metals and Disease. *Biochem J*, 219, 1-14.

Helmut, S., 1997. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. *Exp Physiol*, 82,
291295.

Hensiek AE, Sawce SJ, Feakes R. HLA-DR15 is associated with female sex and
younger age at diagnosis in multiple sclerosis. *J.of Nuerol. Neurosurgery and
Psychiatry* 2002;72;184-187

Henze T, Rieckmann P, Toyka KV: Multiple Sclerosis Therapy Consensus Group of the
German Multiple Sclerosis Society. Symptomatic treatment of multiple
sclerosis. *Eur Neurol*. 2006; 56(2): 78-105.

Hinds, M.W., Kolonel, L.N., Hankin, J.H., Lee, J., 1984. Dietary vitamin A, carotene,
vitamin C and risk of lung cancer in Hawaii. *Am J Epidemiol*, 119(2), 227-37

Horton AA, Fairhurst S. (1987). Lipid peroxidation and mechanism of toxicity. *CRC
Cirit. Rev. Tox*. 18:27-69.

Hunter MI, Nlemadim BC, Davidson DL. Lipid peroxidation products and antioxidant
proteins in plasma and cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients.
Neurochem Res. 1985; 10: 1645–1652.

- Imitola J, Makhlof K, Khoury SJ. Role of neural stem and oligodendrocyte progenitor cells in demyelinating diseases: insights into disease mechanisms and therapeutic potential; Disorders of myelin in the central and peripheral nervous system. (Dangond F., eds) Woburn MA, Butterworth Heinemann. 2002; 57-81.
- Jamroz-Wisniewska A, Beltowski J, Stelmasiak Z, Bartosik-Psujek H. Paraoxonase 1 activity in different types of multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*. 2009; 15: 399–402
- Javed A, Reder AT. Therapeutic role of beta-interferons in multiple sclerosis. *Pharmacol Ther*. 2006; 110: 35-56. Epub 2005 Oct 17.
- Jensen GE, Clausen J. Glutathione peroxidase and reductase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and catalase activities in multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci*. 1984; 63: 45–53.
- Johnson F, Giulivi C (2005) Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Mol Aspects Med* 26: 340–352
- Journal of medical genetics*.1988: 29; 533-541
- Journal of Neurological Science* 1992: 19;466-471
- Karg E, Klivenyi P, Nemeth I, Bencsik K, Pinter S, Vecsei L. Nonenzymatic antioxidants of blood in multiple sclerosis. *J. Neurol*. 1999; 246: 533–539
- Kallaur, A.P., Reiche, E.M.V., Oliveira, S.R. et al. *Mol Neurobiol* (2016).
doi:10. 1007/s12035-015-9648-6
- Keles MS, Taysi S, Sen N, Aksoy H, Akçay F. Effect of corticosteroid therapy on serum and CSF malondialdehyde and antioxidant proteins in multiple sclerosis. *Can. J. Neurol. Sci*. 2001; 28: 141-143
- Kieseier BC, Hemmer B, Hartung HP. Multiple sclerosis – novel insights and new therapeutic strategies. *Curr Opin Neurol*. 2005; 18: 211-20.

- Kim YS, Kim SU. Oligodendroglial cell death induced by oxygen radicals and its protection by catalase. *J. Neurosci Res.* 1991; 29: 100–106.
- Knight JA, Pieper RK., Mc Clellan L. (1988). Specificity of thiobarbituric acid reaction: its use in studies of lipid peroxidation. *Clin. Chem.* 34: 2433-2438.
- Kocatepe Tıp Dergisi (2001), 2, 2 17- 223
- Köse, G., 2011. Kseroderma Pigmentosum Grup D (Xpd), Manganez Süperoksit Dismutaz (MnSOD, SOD2), Glutasyon Peroksidaz 1 (GPX1) Genlerinin Polimorfizmlerinin Baş Boyun Bölgesi Kanselerinde Araştırılması. (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Ad. Ankara.
- Kuran, S.B., 2008. Endometrium Kanselerinde MnSOD, MPO ve NQO Gen Polimorfizmi ve Düzeyleri ile Lipid Peroksidasyon Ürünlerinin Tayini. (Doktora 99 Tezi), İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Ad. İstanbul.
- Kurban S, Akpınar Z, Mehmetoğlu İ. Multiple skleroz hastalarında serum paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri ile oksidatif stresin araştırılması. *Genel Tıp Derg.* 2010; 20(1): 13-17.
- Kurban, S. ve Akpınar, Z. (2013). Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram tıp fakültesi Nöroloji ve Biyokimya A.D. Selçuk tıp dergisi sayı 4, s.168-171.
- Kurue A, Karabudak R. Multipl Skleroz'da sıkça karşılaşılan semptomlar ve semptomatik tedavi prensipleri. *Türkiye Klinikleri Nöroloji Dergisi*, 2004; 2: 237-43.
- Lassmann H, Brück W, Lucchinetti C. Heterogeneity of multiple sclerosis pathogenesis: implications for diagnosis and therapy. *Trends Mol Med.* 2001; 7: 116-121.
- Lee DH, Gold R, Linker RA. Review: Mechanisms of Oxidative Damage in Multiple Sclerosis and Neurodegenerative Diseases: Therapeutic Modulation via Fumaric Acid Esters. *Int. J. Mol. Sci.* 2012;13: 11783-11803
- Lehmann D, Karussis D, Misrachi-Koll R et. al. Oral administration of the oxidantscavenger N-acetyl-L- cysteine inhibits acute experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.* 1994; 50: 35-42.

- Lublin FD, Miller AE. Multipl skleroz ve santral sinir sisteminin diğ er demiyelinizan hastalıkları: In Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM. Neurology in Clinical Practice. Çeviri editörü: Tan E, Özdamar SE. Beşinci edisyon. İstanbul: Veri Medikal Yayıncılık; 2008; 1583-1615.
- Lucchinetti CF, Brück W, Lassmann H. Pathology and Pathogenesis of Multiple Sclerosis: In McDonald WI, Nosewothy JH. Blue Books of Practical Neurology Series. Multiple Sclerosis 2. USA: Elsevier Science, 2003; 93-115.
- Mahad D, Lassmann H, Turnbull D. Review: Mitochondria and disease progression in multiple sclerosis. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2008;34: 577–589
- Malinski T, Bailey F, Zhang ZG, Chopp M. (1993). Nitric oxide measured by porphyrinic microsensor in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion. *J. Cereb Blood Flow Metab.* 13(3):355:358.
- Man S, Ubogu EE, Ransohof RM. Inflammatory cell migration in to the central nervous system: a few new twists on an old tale. *Brain Pathol.* 2007;17(2):243-50.
- Mc Graw-Hill, Multiple sclerosis: In Gilroy J.(edt) Basic Neurology (3rd ed), New York. St. Louis, San Francisco 2000: 199-223.
- Mccord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993;26: 351–357.
- McQuaid S, Cunnea P, McMahon J, Fitzgerald U. The effects of blood-brain barrier disruption on glial cell function in multiple sclerosis. *Biochem Soc Trans.* 2009;37(Pt 1):329-31.
- Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins: In Armstrong D, Sohal RS, Cutler RG, Slater TF (eds) *Free Radical in Molecular Biology, Aging and Disease.* Raven Press, New York 1984: 53–66.
- Mersin üniv. Sağlık Bilim Derg.2(3);2009.
- Mirshafiey A, Mohsenzadegan M. Antioxidant therapy in multiple sclerosis. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2009; 31(1): 13–29.
- Miller AE, Lublin FD, Coyle PK. History- Patology, pathogenesis and pathophysiology. *Multiple Sclerosis in Clinical Practice (First ed)* Taylor & Francis Group, London 2003: 1-29, 103-29.

- Miura, T., Muraoka, S., Ogiso, T., 1993. Adriamycin-induced lipid peroxidation of erythrocyte membranes in the presence of ferritin and the inhibitory effect of ceruloplasmin. *Biol Pharm Bull*, 16(7), 664-7.
- Mueller AR, Platz KP, Langrehr JM, Hoffman RA, Nussler AK, Nalesnik M, Billiar TR, Schraut WH. (1994). The effects of administration of nitric oxide inhibitors during small bowel preservation and reperfusion. *Transplantation*: 58: 1309-16.
- Murray, T.J., Robert Carswell: the first illustrator of MS. *Int MS J*, 2009. 16(3): p. 98-101
- Niki E. (1987). Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phy. Lipids*. 44: 227-253
- Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol*. 1993; 54: 171-8.
- Nutr J*. 2014 Jun 18; 13: 62. doi: 10.1186/1475-2891-13-62
- O'Sullivan SB, Schmitz TJ. *Physical Rehabilitation: Assessment and treatment*. 1994:451-465
- Oberley, T.D., 2002. Oxidative Damage and Cancer. *Amer J Pathol*, 160, 403-408.
- Oğul E. *Demyelinizan hastalıklar: İçinde Klinik Nöroloji, Birinci baskı*. Nobel & Güneş Kitabevi, İstanbul 2002; 159-85.
- Oğul E. *Klinik Nöroloji. Motif Basım*; 2002: 159-209
- Oksenberg JR, Barcellos LF. The complex genetic aetiology of multiple sclerosis *J Neuro Virol* 2000; 6 (Suppl 2): 10-14.
- Oliveira, S.R., Kallaur, A.P., Reiche, E.M.V. et al. *Mol Neurobiol* (2016). doi:10.1007/s12035-016-9860-z
- Öge E. *Nöroloji. İstanbul ÜTF Ders kitapları*. 2004:505-533
- Öğüt, S., Atay, E., 2012. Yaşlılık ve Oksidatif Stres. *S.D.Ü. Tıp Fak. Dergisi*, 19(2), 6874

- Paglia DE, Valentine WN (1967): Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab & Clin Med*; 70: 158169.
- Palfy G., MS in Hungary , including the GYPSY population. *Multiple sclerosis East and West. Kyushu Universty Pres 1982:S:149-157*
- Placer CA, Cushman LL, Johnson BC. (1990). Estimation of product of lipid peroxidation (Malondyaldehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem.* 16: 259-264.
- Porter NA. (1984). Chemistry of lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* 105: 273-283.
- Revel M. Interferon- β in the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Pharmacol Ther.* 2003; 100: 49-62.
- Ropper A, Brown R, Multipl skleroz ve ilişkili demiyelinizan hastalıklar. Adams and Victor's Principles of Neurology 8.Türkçe Baskı (içinde). İstanbul: Güneş kitabevi; 2006: s.771-793
- Rowland P.L, Multiple Skleroz. Merritt's Neurology. 11.Türkçe Baskı (içinde). Güneş kitabevi; 2008: s.941-61.
- Sadiq SA, Mille J.,Demyelinating disease. Multiple sclerosis. In Rowlaand RP(ed): RP(ed):Merrt's Textbook of Neurology.9th Ed. New York,Williams and Wilkins,1995:pp 804-825
- Sadiq SA, Miller JR. Demyelinating Diseases: In Rowland LP (edt), Merritt's Texbook of Neurology, Williams & Wilkins. Baltimore, Philadelphia, Hong Kong 1995: 805-829.
- Sadovnick AD, Armstrong H, Rice GPA, et al. A population based twin study of multiple sclerosis in twins: Update. *Ann Neurol.* 1993; 341: 1179-81.
- Sadovnick AD, Baird PA. Multiple sclerosis; update risk for relatives. *American Journal of medical genetics.*1988: 29; 533-541.
- Samet, Ö. (2014). Relapsing-remitting multiple skleroz hastalarının relaps ve remisyon dönemlerinde oksidatif stresin araştırılması (Yayımlanmamış uzmanlık tezi). Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniği.İstanbul.

- Sav A. Multipl Skleroz'un Patolojik Bulguları. Türkiye Klinikleri Nöroloji Multiple Skleroz Özel Sayısı, Cilt:2, Sayı:3, 2004; 177-182.
- Seven A, Aslan M, İncir S, Altıntaş A. Evaluation of oxidative and nitrosative stress in relapsing remitting multiple sclerosis: effect of corticosteroid therapy. *Folia Neuropathol.* 2013; 51 (1): 58-64
- Schreibelt G, van Horssen J, van Rossum S et.al. Therapeutic potential and biological role of endogenous antioxidant enzymes in multiple sclerosis pathology. *Brain Res Rev*, 2007; 56(2): 322-330.
- Senti M, Tomas M, Fito M, et al. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 5422-6.
- Shah AM, Channon KM, Free radicals and redox signalling in cardiovascular disease. *Heart.* 2004; 90: 486-7
- Sies H, de Groot H. Role of reactive oxygen species in cell toxicity. *J Toxicol Lett*, 1992; 64: 547–551.
- Slater FT. Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* 1984;105:283-293.
- Stadtman ER, Levine RL. (2003) Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*, 25, 207-218.
- Stephen Sawcer. The complex genetics of multiple sclerosis: pitfalls and prospects. *Brain.* 2008; 131(12): 3118–3131
- Tajouri L, Mellick AS, Ashton KJ, et al. Quantitative and qualitative changes in gene expression patterns characterize the activity of plaques in multiple sclerosis. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2003; 119: 170–183.
- The impact factor of Bosnian Journal of Basic Medical Sciences (BOSNIAN J BASIC MED):0.489 (2011)
- Totter JR. Spontaneous cancer and its possible relationship to oxygen metabolism. *Proc Natl Acad Sci.* 1980; 77: 1763–1767.
- Trapp BD, Stys PK. Virtual hypoxia and chronic necrosis of demyelinated axons in multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2009; 8(3): 280-91.

- Trenti, T., Bertolotti, M., Castellana, C.N., Ferrari, A., Pini, L.A., Sternieri, E., 1992. Plasma glutathione level in paracetamol daily abuser patients. Changes in plasma cysteine and thiol groups after reduced glutathione administration. *Toxicol Lett*, 64-65, 757-61.
- Turkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci 2012;24(2):128-33
- Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem] 2010; 35 (3) ; 183–189
- Türk Ü, Alp R, Sur H. Prevalence of Multiple Sclerosis Door-to Door Survey in Maltepe Istanbul, Turkey. *Neuroepidemiology* 2006; 27: 17-21.
- Uysal S, Akyol S, Hasgöl R, Armutçu F, Yiğitoğlu MR. Çok Yönlü Bir Enzim: Paraoksonaz. *Yeni Tıp Dergisi*, 2011; 28(3): 136-141
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izaković, M., Mazur, M., 2006. Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stres-Induced Cancer. *ChemicoBiological Interactions*, 160, 1-40
- Van Horssen J, Schreibelt G, Drexhage J, et. al. Severe oxidative damage in multiple sclerosis lesions coincides with enhanced antioxidant enzyme expression. *Free Radic Biol Med*. 2008; 45: 1729–1737.
- Winrow VR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR. Free radicals in İnflammation: second messengers and mediators of tissue destructions. *Br Med Bull*, 1993; 49: 506–22.
- Witherick J, Wilkins A, Scolding N, Kemp K. Mechanisms of oxidative damage in multiple sclerosis and a cell therapy approach to treatment. *Autoimmune Dis*. 2010 15;2011:164608)

Young, I.S., Woodside, J.V., 2001. Antioxidants in Health and Disease, *J Clin Pathol*, 54, 176-186

Yuceyar N, Taskiran D, Sagduyu A. Serum and cerebrospinal fluid nitrite and nitrate levels in relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis patients. *Clin Neurol Neurosurg*. 2001; 103: 206-11.

Zejnilovic, J., Akev, N., Yilmaz, H., Isbir, T., 2009. Association Between Manganese Superoxide Dismutase Polymorphism and Risk of Lung Cancer. *Cancer Genet Cytogenet*, 189(1), 1–4.



8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Gizem ÇİTAK
Doğum Tarihi ve Yeri: 1987/ALTINDAĞ
Medeni Hali: Evli
Yabancı Dili: İngilizce
e-mail: gzmakg@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimleri	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu EBELİK Bölümü	2010
Lise	ANKARA LİSESİ	2004

İş Deneyimi

- Ankara Güven Hastanesi /Kadın Doğum servisi Temmuz 2010-Ağustos 2011
Tokat Halk Sağlığı Turhal Toplum Sağlığı Merkezi Yenisu Eylül 2011- Temmuz 2013
- Tokat Halk Sağlığı Turhal Toplum Sağlığı Merkezi 18 nolu Aile Hekimliği
Temmuz 2013-Ağustos 2014
- Tokat Halk Sağlığı Pazar İlçe Entegre Hastanesi Görevlendirme Ağustos 2014-
Mart 2015
- Tokat Aile ve Sosyal Politikalar İl müdürlüğü/ Çocuk Koruma Sekreteryası
Görevlendirme Mart 2015- Eylül 2015
- Tokat Halk Sağlığı Artova İlçe Entegre Hastanesi Görevlendirme Eylül 2015-
Mart2016
- Tokat Bağlar Aile Sağlığı Merkezi 3 nolu Aile Hekimliği Birimi halen