

**T.C.**  
**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**FİBROMİYALJİ HASTALARINDA PARAOKSONAZ 55 L/M VE  
192 Q/R POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Mehmet ŞAHİN**

**UZMANLIK TEZİ**

**TOKAT**

**2013**



**T.C.**  
**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**FİBROMİYALJİ HASTALARINDA PARAOKSONAZ 55 L/M VE  
192 Q/R POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Mehmet ŞAHİN**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Yrd. Doç. Dr. Erkan SÖĞÜT**  
**Yrd. Doç. Dr. Ali AKBAŞ**

**TOKAT**

**2013**

## TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince ve tez çalışmalarım sırasında bilgilerini ve deneyimlerini paylaşarak her türlü desteği sağlayan tez danışmanlarım Yrd. Doç. Dr. Erkan SÖĞÜT ve Yrd. Doç. Dr. Ali AKBAŞ' a, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Şemsettin ŞAHİN'e, ihtisas süresince ve çalışmalarım esnasında yardımlarını gördüğüm anabilim dalımızın değerli öğretim üyelerinden Doç. Dr. Hüseyin ÖZYURT ve Yrd. Doç. Dr. İlknur BÜTÜN'e, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. Ahmet İNANIR'a, tez çalışmamda yardımcı olan Öğr. Gör. İsmail BENLİ'ye, birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma ve çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına, ayrıca tezime yardımlarından ve katkılarından dolayı Dr. Burak GÜMÜŞ'e, tez hazırlık sürecinde bana her konuda destek olan eşime ve aileme teşekkür ediyorum.

**Dr. Mehmet ŞAHİN**

## ÖZET

FM sendromu toplumda sık gözlenen, kronik ağrı, yorgunluk, uyku bozuklukları ve sabah tutukluğu gibi yakınmalarla beraber hastaların belirli vücut noktalarında hassasiyetle seyreden, etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış bir rahatsızlıktır. Son yıllarda FM patofizyoloji bakışımızda önemli gelişmeler olmasına rağmen, etyolojisi ve patojenik mekanizmaları hala tam olarak bilinmemektedir. Çalışmamızda bir antioksidan olan PON 1 enzim seviyesinin ve polimorfizminin FM etyopatogenezinde ve kliniğinde rolü olup olmadığını araştırmak amaçlanmıştır. Çalışmamızda 150 FM hastasından oluşan hasta grubu ve 150 kişiden oluşan kontrol grubu olmak üzere iki grup oluşturulmuştur. PON-1 enzim düzeyi, PON-1 192 Q/R ve 55 L/M polimorfizmleri araştırılmıştır. Hasta grubuna Hassas Nokta Sayısı, Fibromiyalji Etki Sorgulaması (FES), Beck Depresyon Ölçeği (BDÖ), Vizüel Analog Ağrı Skalası (VAS) gibi klinik değerlendirme için yardımcı ölçekler uygulanmıştır.

FM hastalarının plazma PON1 enzim düzeyleri, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olarak tespit edilmiştir. Bunun yanında PON-1 55 L/M ve 192 Q/R ile FM arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Her iki polimorfizme ait genotip frekans dağılımları, kontrol ve hasta grubunda anlamlı bir farklılık göstermemiştir. PON-1 genotiplerinin FM riski açısından göreceli oranları istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. PON-1 genotipleri ile FM hastalarındaki klinik bulgular arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. FM hastalarında, PON-1 plazma düzeyleri ile klinik skorlar arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Sonuç olarak, yaptığımız bu çalışmada; PON-1 55 L/M ve 192 Q/R polimorfizmleri ile FM hastalığı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Plazma PON-1 protein düzeyleri FM grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuş, bunun da hastalığı artmış oksidatif strese karşı reaktif bir artıştan kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu çalışma daha geniş ve farklı etnik popülasyonlarda tekrarlanmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** FM, Paraoksonaz

## ABSTRACT

Syndrome of Fibromiyalji (FM) is completely unknown disorder which is frequently seen in society with symptoms like chronic pain, fatigue, sleep disorders and morning stiffness and tenderly progresses at some certain points on patient's body. In recent years, although our vision of FM pathophysiology has been made progress, it's etiology and pathogenic mechanisms are still unknown. In our study, we intend to find answer to whether the level of PON 1, which is an antioxidant and it's polymorphism play any role in etiopathogenesis of FM. In this study, the patient group including 150 FM patients and the control group including 150 people were grouped. Level of PON-1 enzyme, PON-1 192 Q/R and 55 L/M polymorphisms were investigated. Supporting scales for clinic evaluation were implemented to group of patients such as tender point count, Fibromyalgia Impact Questionnaire score, Beck Depression Inventory, Visual Analog Scale (VAS) Pain Score.

That FM patient's plasma levels are significantly higher than control group have been determined. Additionally, any significant relation between FM and polymorphisms of PON-1 55 L/M and 192 Q/R haven't been found. Both two polymorphism frequency distributions of genotypes haven't indicated important differences between control and patient group. That PON-1 genotypes of relative ratio for FM risk are not significant statistically has been found. Statistically, a significant relation between PON-1 genotypes and clinic symptoms of FM patients haven't been determined as well. Lastly, an important relation between FM patient's PON-1 plasma levels and clinic scores haven't been found.

To sum up, in this study, any significant relation between FM disorder and polymorphisms of PON-1 55 L/M and 192 Q/R haven't been detected. The level of plasma PON-1 protein have been found significantly higher and the reason of it has been thought as a result of reactive increasing against increased oxidative stress in illness. This study must be repeated in wider and different ethnic populations.

**Key Words:** FM, Paraoksonaz

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
İNGİLİZCE ÖZET	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
KISALTMALAR	ix
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Fibromiyalji Sendromu	2
2.1.1. Tanım	2
2.1.2. Tarihçe	2
2.1.3. Epidemiyoloji	3
2.1.4. Etyopatogenez	4
2.2. Klinik Bulgular	12
2.2.1. Sendroma Eşlik Eden Belirtiler	13
2.2.2. Fizik Muayene Bulguları	15
2.2.3. Ayırıcı Tanı:	17
2.2.4. Laboratuvar ve Görüntüleme:	18
2.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	19
2.3.1. Antioksidan sistem	21
2.3.2. FM ve oksidatif stres	23
2.4. Paraoksonaz-1 Enzimi	24
2.4.1. PON-1 Enzim Fonksiyonu ve Substratları	26
2.4.2. Paraoksonaz Gen ailesi	27
2.4.3. PON-1 Polimorfizmi	28
3. MATERYAL VE YÖNTEM	31
3.1. Olgular:	31
3.2. Kullanılan Ölçekler:	31
3.2.1. Hassas Nokta Sayısı:	31

3.2.2.FM Etki Sorgulaması	32
3.2.3.Beck Depresyon Ölçeği	32
3.2.4.Vizüel Analog Ağrı Skalası	32
3.3.PON-1 Seviyesinin ELİSA Yöntemi ile Tespit Edilmesi	33
3.4.DNA İzolasyonu:	33
3.5.PON-1 55 L/M ve 192 Q/R Polimorfizmlerinin Tespiti	34
3.5.1.PON-1 Enzimine Ait Primer ve Prob Tasarımı	34
3.5.2.PON-1 Gen Polimorfizminin Real-Time PCR Hibridizasyon Problemi ile LightCycler 480 II Cihazında Saptanması	35
3.5.3. PON-1 Enzim Polimorfizmi İçin Uygulanan Real-Time PCR Protokolü	38
3.5.3. Real-Time PCR Sonuçlarının Değerlendirilmesi	41
3.6. İstatistiksel Analiz	42
4.BULGULAR	43
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	47
6.KAYNAKLAR	53

## KISALTMALAR

FM	: Fibromiyalji
PON-1	: Paraoksonaz-1
ACR	: Amerikan Romatoloji Birliği
EMG	: Elektromyelografi
ANA	: Antinükleer Antikor
EEG	: Elektroensefalografi
MAS	: Miyofasiyal ağrı sendromu
KYS	: Kronik yorgunluk sendromu
SOD	: Süperoksit Dismutaz
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
MDA	: Malondialdehid
PCR	: Polymerase Chain Reaction
FES	: Fibromiyalji Etki Sorgulaması
BDÖ	: Beck Depresyon Ölçeği
VAS	: Vizüel Analog Skala
TAS	: Total Antioksidan Seviyesi
TOS	: Total Oksidan Seviyesi
GTB	: Gerilim Tipi Başağrısı
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein



## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1:</b> FM' de görülen semptomlar ve sıklıkları	15
<b>Tablo 2:</b> FM' de hassas noktaların lokalize oldukları anatomik bölgeler	16
<b>Tablo 3:</b> 2010 ACR Tanı kriterleri	17
<b>Tablo 4:</b> PON 1 Enziminin substratları	26
<b>Tablo 5:</b> LightCycler'da PON-1 55 genotiplerinin melting point analizleri için kullanılan PCR şartları	36
<b>Tablo 6:</b> LightCycler'da PON-1 192 genotiplerinin melting point analizleri için kullanılan PCR şartları	37
<b>Tablo 7:</b> PON1 L55M ve Q192R gen polimorfizminin tespitinde kullanılan PCR prosedürü	38
<b>Tablo 8:</b> Kontrol ve FM hastalarının demografik özellikleri.	43
<b>Tablo 9:</b> Kontrol ve hastaların genotip frekans dağılımları.	44
<b>Tablo 10:</b> Genotip frekanslarına göre FM için göreceli risk oranları.	45
<b>Tablo 11:</b> FM hastalarının genotip tiplerine göre paraoksonaz enzim düzeyleri ve klinik bulgularının karşılaştırılması.	46

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1: ACR kriterlerinde kullanılan 18 hassas nokta	16
Şekil 2: Paraoksonaz 1 enziminin yapısı	25
Şekil 3: PON-1, PON-2 ve PON-3 genlerinin insan 7. kromozomu q21. ve q22. bantları üzerindeki yerlerinin gösterimi	28
Şekil 4: PON-1 enzimi promoter bölgesi ve polimorfizmleri	29
Şekil 5: VAS Ağrı Skoru	32
Şekil 6: PON-1 55 L/M için çoğaltma eğrisi (Amplifikasyon Eğrisi)	39
Şekil 7: PON-1 55 L/M için erime eğrisi (Melting curve)	39
Şekil 8: PON-1 55 L/M için erime pikleri (Melting peaks)	39
Şekil 9: PON-1 192 Q/R için çoğaltma eğrisi (Amplifikasyon Eğrisi)	40
Şekil 10: PON-1 192 Q/R için erime eğrisi (Melting curve)	40
Şekil 11: PON-1 192 Q/R için erime pikleri (Melting peaks)	40

## 1. GİRİŞ

Fibromiyalji (FM) sendromu yaygın kas ağrıları, yorgunluk, halsizlik ve uyku bozukluğu ile seyreden bir hastalıktır. FM, hastaların vücutlarında belirli noktaların ağrılı hassasiyetiyle seyreden kronik bir ağrı sendromudur (1). Son yıllarda FM'ye patofizyolojik bakışımızda önemli gelişmeler olmasına rağmen, FM etyolojisi ve patojenik mekanizmaları hala tam olarak bilinmemekte, araştırmacılar ve klinisyenler için zor bir klinik tablo olmaya devam etmektedir (2-4).

FM etyopatogenezinde serbest radikallere bağlı oksidatif hasarın rolü daha önce yapılan çalışmalar ile araştırılmıştır. FM üzerine yapılan araştırmalarda kaslar üzerindeki hassas noktalarda lokal hipoksi olduğu, oksijen basıncının normal olmadığı ve mikrodolaşım bozukluklarının olduğu bildirilmektedir (5-7). Ayrıca FM hastalarında adenosin difosfat ve kreatin fosfat seviyelerinde azalma olduğu; adenosin monofosfat ve kreatin seviyelerinde ise artma olduğu tespit edilmiştir (8). FM ile oksidatif stres belirteçleri ve antioksidan enzimlerin ilişkisini araştıran çalışmalarda lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan malondialdehid (MDA) ve protein peroksidasyonunun bir göstergesi olan protein karbonil seviyelerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek seviyede olduğu bildirilmektedir (9-12).

Antioksidan özelliğiyle öne çıkan bir başka enzim de paraoksanaz-1 (PON-1)'dir. Özellikle kardiyovasküler hastalıklarda, plazma lipitlerinin oksidasyonunu önlemedeki rolünü inceleyen birçok araştırma mevcuttur. Bunun yanı sıra diyabet, sepsis, alzheimer ve parkinson gibi diğer birçok hastalıklarla olan ilişkisini inceleyen araştırmalar bulunmaktadır (13).

Bizde yaptığımız bu çalışmada, PON-1 enzim seviyesinin, PON-1 polimorfizmlerinin (55 L/M ve 192 Q/R) FM hastalığının etyopatogenezindeki rolünü ve klinik bulgularla olan ilişkisini araştırmayı amaçladık.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1 Fibromiyalji Sendromu**

#### **2.1.1. Tanım**

FM sendromu; yaygın kas ağrıları, yorgunluk, halsizlik ve uyku bozukluğu gibi semptomları olan ve hastaların belirli vücutlarında belirli noktalarda ağrı ve hassasiyetle seyreden kronik bir ağrı sendromudur (1). Hastalığın en önemli semptomu kas ağrısı olmakla birlikte hastalarda ayrıca lokal eklem ağrıları, subjektif şişlikler, ekstremitelerde uyuşma da görülebilmektedir (14).

FM kelimesi Latince kaynaklıdır; fibre: lif, mys: kas, algos: ağrı, ia: durum anlamına gelmektedir. Yunus ve arkadaşları 'fibrositis' kelimesi yerine FM'yi kullanmışlardır, çünkü fibrositis kelimesinde ki -itis eki iltihabi bir durumu tanımlamaktadır fakat FM'de iltihabi bir durum gözlenmemektedir (15).

Toplumda görülme sıklığı %2-2,5 arasında olduğu tahmin edilmektedir. Hastalık kadınlarda çok daha sık görülmektedir. Çoğunlukla orta yaşlarda görülmekle birlikte çocukluk döneminde ve ileri yaşlarda da görülebildiği bildirilmektedir. (1).

#### **2.1.2. Tarihçe**

1850-1900 yılları arasında FM sendromu semptomları ilk olarak Alman araştırmacı Froriep tarafından 'muskelharten' adıyla tanımlanmıştır. Froriep, bazı hastalarda kasların dokunmakla hassas olduğunu ve hastalarda lokal veya sistemik bir inflamasyonun olmadığını, ayrıca yorgunluk ve uyku bozukluklarının sık gözlendiğini bildirmektedir (15). Gowers 1904 yılında, kas-iskelet hassasiyetinin enflamasyona bağlı olduğunu düşünüp 'fibrozit' terimini kullanmıştır (16).

Bugünkü anlamda FM'nin tanımı ise Smythe ve Moldfsky'nin 1970'li yıllarda yaptıkları çalışmalar ile başlamıştır. Hastalarda hassasiyetin olduğu anatomik bölgeleri "hassas nokta" olarak ifade etmişlerdir. Ek olarak hastalarda uykunun 4. evresinde bir bozukluk olduğunu ve bunun FM ile ilgili olan kas duyarlılığına neden olabileceğini belirtmişlerdir (17).

ACR (Amerikan Romatoloji Birliği) 1990 yılında, yaygın ağrının ve hassas noktanın tanımını yaparak bugün kullanılan tanı kriterlerini belirlemişlerdir. Kuzey Amerika'nın 16 merkezinde 293 FM hasta grubu ve 265 kontrol grubu olmak üzere, toplam 558 kişi üzerinde yapılan çalışma ile bu kriterler oluşturulmuştur. Bu kriterler %88.4 sensitif ve %81.1 spesifik olarak tespit edilmiştir (18).

### **2.1.3. Epidemiyoloji**

ACR kriterlerine göre Amerika'da yapılan epidemiyolojik çalışmada FM'nin erişkin toplumdaki prevalansı %2 (kadınlarda %3,5 erkeklerde %0.5) olarak bulunmuştur (19). Türkiye'de 20-64 yaş aralığında olan kadınlarda yapılan çalışmada da prevalans benzer olarak %3.6 bulunmuştur (20). Hastalığın insidansı tam bilinmemekle birlikte, prevalansının genel dahiliye kliniklerinde %5.7, romatoloji kliniklerinde ise %14-20 arasında değiştiği bildirilmektedir (21).

Birçok ülkede yapılmış çalışmalar FM'nin dünyada benzer sıklıkta bulunduğunu göstermektedir. FM tanısı alan hastaların %80-90'ını kadınlar oluşturmaktadır. FM belirtilerinin 40-60 yaşlar arasında daha sık ortaya çıktığını, toplumda sıklığının yaşla birlikte arttığını belirtmektedirler. FM sendromunda başlıca risk faktörlerinin kadın olmak, boşanmış olmak, düşük eğitim ve gelir düzeyi olduğu belirtilmektedir (22, 23).

Çocuklarda semptomları belirlemek oldukça zor olduğu ve hastalığın çocuklardaki prevalansı tam olarak bilinmediği belirtilmektedir. Juvenil FM'nin klinik özellikleri yetişkin FM'sine benzemektedir (24). Ailesel sıklık konusunda 90'lı yıllarda yapılan araştırmalarda, annelerinde FM sendromu olan çocukların

%28'inde FM tespit edildiği bildirilmiştir (25). FM hastaları ile kan bağı olan akrabalarda sendromun prevalansı %26 olarak bulunmuştur (26).

#### **2.1.4. Etyopatogenez**

FM etyopatogenezi konusundaki teoriler dört ana başlık altında incelenmektedir (1).

Periferik Teoriler:

- Kas işlevlerinde bozukluk
- Sempatik sinir sistemi aktivitesi ve otonomik disfonksiyon

Santral Teoriler:

- Uyku bozukluğu
- Ağrı modülasyon bozukluğu
- Merkezi sinir sisteminde biyokimyasal değişiklikler ve nöroendokrin disfonksiyon
- Merkezi sinir sisteminde kan akımı değişiklikleri

İmmünolojik Mekanizmalar:

Diğer Olası Nedenler:

- Genetik faktörler
- Fiziksel travma

#### **Periferik Teoriler**

#### **Kas İşlevi Bozuklukları**

Birçok araştırmacı FM sendromundaki ağrının nedenini araştırırken kas dokularındaki olası bozuklukları incelemiştir. Hem hastalar hem de araştırmacılar ilk aşamada ağrının nedenini kas kaynaklı olarak tanımlama eğilimindedirler. Bununla birlikte, bu sebeple kas çalışmalarına büyük önem verilmiş ve hala araştırılmaya devam edilmektedir. Pek çok çalışmada kasların fonksiyonunda ve ultrastrüktürel yapısında bozulma olduğu ileri sürülmüştür (1).

FM'li hastaların trapezius kasından alınan biyopsilerde hassas bölgelerde ATP ve fosfokreatin seviyesinde azalma ile birlikte kırmızı fibrillerde yırtılmalar olduğu bildirilmektedir (8). Bu bulguların, kronik mikrotravmalar sonucu gelişmiş olabileceği ve hastalarda egzersiz sonrası gözlenen ağrının oluşmasına yol açabileceği belirtilmektedir. FM'deki ağrının, uzun süreli kas gerginliği ve iskemi ile açıklanabileceğini ileri süren araştırmalar bulunmaktadır. Bu teoriye kanıt olarak oksijenlenmenin, trapezius ve brakioradialis kaslarında düşük olması gösterilmektedir (6). Kas biopsi çalışmalarında tipik olarak inflamasyon gözlenmemektedir. Biyopsilerde membran, mitokondri ve kas liflerinde değişiklikler gözlenmektedir. Gözlenen değişimler; tip 2 liflerde atrofi, tip 1 liflerde eklem içi manzarası, kırmızı lifler, yağ birikimi, glikojen birikimi, subsarkolemmal mitokondrial birikim ve milimetrede azalmış kapiller sayısı olarak bulunmuştur (27).

FM'li hastalarda elektromyografi (EMG) tetkiki ile yapılan çalışmalarda sonuçlar farklılıklar göstermektedir. Svebak ve arkadaşları EMG sonuçlarında belirgin bir farklılık saptamadığını bildirmişken, Elert ve arkadaşları kontraksiyonlar arasında kontrollerden daha yüksek kas gerilimi saptadıklarını bildirmişlerdir (28,29). EMG ile yapılan çalışmalarda kullanılan yöntemlerdeki farklılıklarından dolayı çalışmaların bir kısmında kas aktivitesi artmış, bir kısmında ise azalmış olarak tespit edilmiştir. Trapezius kasında kas geriliminde artış ve gevşeyememenin gösterilmesi, hastalığın nöromusküler kontrol mekanizmalarında bir bozuklukla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (30). Elektron mikroskopisinde ise en dikkat çekici lezyonlar, Z bant ve mitokondrilerde yapısal anormallikler ile nükleer delesyonlar olarak bildirilmektedir (31).

Sonuç olarak, yapılan çalışmalarda kas biyopsilerinde göze çarpan en önemli bulgunun inflamasyon değil, lokal anoksi olduğu belirtilmektedir. Kasta bir sorunun varlığı kesin olmakla birlikte bu durum günümüze kadar histolojik ve EMG çalışmaları ile tam olarak aydınlatılamamıştır. Kas dokusundaki anormalliklerin, FM sendromunda görülen ağrı semptomu üzerine olan etkisine dair çelişkili araştırmalar olmakla birlikte bu konudaki çalışmalar halen devam etmektedir (1).

## **Sempatik Sinir Sistemi Aktivitesi ve Otonomik Disfonksiyon:**

FM'de bazı bulgular, otonom sinir sisteminde bir bozukluk olabileceğini akla getirmektedir. Bu hastalar sağlıklı kontrol grupları ile kıyaslandığında bazı otonomik fonksiyon testlerinin bozulduğu bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda FM'li hastalarda, akustik stimülasyon veya soğuk basınç testine sempatik sinir sistemi yanıtın azaldığı belirtilmektedir (32).

1988 yılında yapılan kontrollü çalışmada, stellar ganglion blokajı ile hassas nokta sayısının ve dinlenme sırasındaki ağrı şiddetinin azaldığı tespit edilmiştir (8). Bir başka çalışmada ise FM sendromunda otonomik disfonksiyon saptamak amacıyla inceledikleri sempatik deri yanıtı latanslarının uzadığı tespit edilmiş olup, amplitüdlere ise hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır (33).

FM'de gözlenen otonomik disfonksiyonun, bu hastalığın birden fazla sistemi ilgilendiren bulgularını teorik olarak açıklayabileceğini ve bu hastalarda karakteristik uyku bölünmesinin sebebinin nokturnal sempatik hiperaktivite olabileceği düşünülmektedir. Sempatik cevapta bozulma strese ve yorgunluğa neden olabilmektedir. Anksiyete, sıkka semptomları, reynoud benzeri fenomen ve irritabl barsak sendromunun sebebi adrenerjik aktivite artışı olabilir. FM'nin en sık semptomu olan yaygın ağrının da sempatik disfonksiyonla açıklanabileceği bildirilmektedir (32).

## **Santral Teoriler**

### **Uyku Bozukluğu**

FM'li hastaların uykuya dalamama, uykudan sık sık uyanma veya dinlendirmeyen uyku gibi şikayetleri olmaktadır (34). Özellikle uykunun dinlendirici olmayışı, artmış ağrı ve yorgunluk şiddeti ile ilişkilendirilmektedir (35). FM'li hastaların elektroensefalografilerinde (EEG), uykuda anormal paternlerin olduğu



bazı çalışmalarda gösterilmektedir (36). Normal bir kişi, uykuya dalınca, 60-90 dakika süreli non-REM uyku dönemine girmektedir. Daha sonra REM ve non-REM uyku dönemleri birbirini izlemektedir (37). Uykunun non-REM denilen 4. periyodunda, normalde saniyede 1-2 dalganın görülmesi gerekmektedir ancak FM'li hastalarda ise bu dönemin saniyede 10-12 adet alfa dalga akımıyla bölündüğü tespit edilmiştir. Bu anormal patern Alfa EEG Non-REM Anomalisi olarak isimlendirilmekte ve göreceli olarak hızlı alfa dalgalarının daha yavaş olan delta dalgaları üzerine eklenmesi ile karakterize olduğu bildirilmektedir. FM'ye eşlik eden uyku bozukluğuna Alfa-delta Uyku'su ismi verilmiştir (36). Alfa-delta Uyku'su (4. dönem uyku problemleri); bazı psikiyatrik sendromlar, emosyonel stresler, fiziksel travma sonrası, romatoid artrit, kronik yorgunluk sendromu, nokturnal myoklonus ve uyku apneleri gibi durumlarda da görülebilmektedir (38).

Kısacası, yavaş dalga uyku bozukluğunun, FM semptomlarının ortaya çıkması için gerekli olmadığı; FM semptomlarının oluşumuna katkıda bulunabileceği belirtilmektedir. FM sendromunun patogenezinde yavaş dalga uyku bozukluğunun gerçek rolü ne olursa olsun; yapılan çalışmalar ile uyku bozukluğunun bazı klinik bozukluklarla ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Ayrıca uyku bozukluğunun tek bir endojen bozukluğa mı bağlı olduğu, yoksa anksiyete, depresyon veya FM sendromunun gece ağrısına sekonder olarak mı geliştiği; yani uyku bozukluğunun mu FM sendromunu ortaya çıkardığı, yoksa FM sendromunun mu uyku bozukluğuna yol açtığı kesin olarak bilinmemektedir (39).

### **Ağrı Modülasyon Bozukluğu**

FM'li hastalarda santral ve periferik nosisepsiyon bozukluklarının, artmış ağrı düzeyiyle ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Deri ve kaslardaki nosiseptör sistemler henüz bilinmeyen mekanizmalarla FM semptomlarının oluşumuna yol açabilmektedir. Bu değişikliklerin kas ve yumuşak doku yaralanmalarından sonra ağrı oluşturucu mediatörlerinin salınmasına bağlı olarak gerçekleşebileceği düşünülmektedir. Bu ağrı mediatörleri, nosiseptör sistemleri duyarlı hale getirebilir. Böylece, doku enflamasyon mediatörleri ve sinir büyüme faktörleri, nosiseptör

reseptörleri uyarabilmekte ve ağrı hassasiyetindeki temel değişikliklere sebep olabilmektedir (40).

### **Merkezi Sinir Sisteminde Biyokimyasal Değişiklikler ve Nöroendokrin Disfonksiyon**

FM'li hastalarda hipotalamo-pitüiter-adrenal aks fonksiyonunu araştıran bazı çalışmalar sonucunda; plazma kortizol diüurnal ritminde bozulma, akşamları kortizol düzeyinde görece yükseklik, hastaların %30 kadarında deksametazon testinde anormallik ve 24 saatlik idrarda serbest kortizol miktarında azalma tespit edildiği bildirilmektedir (41,42).

1994 yılında Crofford ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; akşam toplanan total ve serbest kortizol seviyelerinin FM hastalarında daha yüksek olduğu, 24 saatlik üriner serbest kortizol seviyesinin ise sağlıklı kontrollere göre daha düşük olduğu bildirilmektedir. Yapılan bu çalışma ile kortikotropin releasing hormon stimülasyonuna kortizol yanıtının FM hastalarında kontrol grubuna göre azaldığı gösterilmiştir. Bazal üriner ve akşam plazma serbest kortizol seviyelerinde gözlenen farklılığın hipotalamo-pitüiter-adrenal aks fonksiyon bozukluğunu; kortikotropin releasing hormona düşük kortizol yanıtın ise adrenal cevap azlığını gösterdiği bildirilmektedir (42).

Gür ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptığı çalışmalarda; FM hastalarında kortizol seviyesi kontrol grubuna göre daha düşük olarak bulunmuş ve bu kortizol seviyesinde ki düşüklüğün depresyon skoru yüksek olan hastalarda daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca FM hastalarında yorgunluğu ve uyku düzensizliği olanlar ile kontrol grubu karşılaştırıldığı zaman; kortizol düzeyinin anlamlı olarak düşük olduğu ve kortizol düzeyi ile hassas nokta sayısı arasında negatif bir ilişki bulunduğu gözlenmiştir. (43,44).

Serum kortizol, tükürük kortizol ve 24 saatlik idrarda kortizol düzeyleri birçok çalışmada araştırılmış ve literatürdeki sonuçlar çeşitlilik göstermektedir.

Atipik depresyon ve biyopsikososyal faktörlerin kortizol seviyesini etkileyebileceği ve azalmış kortizol seviyesine sebep olabileceği düşünülmektedir (45).

FM hasta grubunun, kontrol grubuna göre dolaşımdaki somatomedin C seviyesinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Somatomedin C seviyesindeki düşüklüğe bağlı olarak büyüme hormonu salgılanması bozulmakta ve bu durumun bir sonucu olarak hipotalamo-pitüiter-adrenal aks cevabı etkilenmekte veya adrenal cevap yetersizliği gelişmektedir. Büyüme hormonu salgılanmasındaki azalmanın, kas mikrotravmasına veya mikrotravmanın iyileşme sürecinin uzamasına neden olabileceği belirtilmektedir (46).

Kadınlarda FM sendromunun erkeklerden daha sık görülmesinde, cinsiyet hormonlarındaki farklılığın sorumlu olduğu düşünülmektedir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda cinsiyet hormonları ve ağrı hassasiyeti arasında anlamlı bir ilişkinin tespit edilemediği bildirilmektedir (47, 48).

### **Nöropeptid Anomalileri**

Merkezi sinir sisteminde ağırlı uyarının değerlendirilmesinde; Substans P ağrı algılanmasını artırmakta, noradrenalin ve serotonin ise ağrı algılanmasını azaltmaktadır. FM hastalarında serebrospinal sıvı Substans P düzeylerinde artış saptandığı tespit edilmiştir (49). Serumda serotonin ve prekürsörü olan L-triptofan seviyesi ve beyin omurilik sıvısında serotoninin ana metaboliti olan 5-HIAA seviyesi düşük olarak bulunmuştur. Norepinefrinin metaboliti olan 3-metoksi-4 hidroksi fenil glikol seviyesi de beyin omurilik sıvısında düşük olarak bulunmuştur (50-52). Bu bulguların sonucunda FM sendromunda ağrı işlenmesini kolaylaştırıcı ve baskılayıcı nörotransmitterler arasında bir dengesizlik olabileceği düşünülmektedir. Nöropeptid seviyesindeki bozukluklar; hem ağırlı uyarıların daha şiddetli algılanmasına (hiperaljezi), hem de ağrısız uyarıların ağırlı olarak algılanmasına (allodinia) yol açabileceği öne sürülmektedir (53).

### **Merkezi sinir sisteminde kan akımı değişiklikleri:**

Bölgesel serebral kan akımına ilişkin semikantitatif ölçümler spesifik beyin yapılarındaki sinaptik aktivite düzeylerini yansıtmaktadır (1). Yapılan bir dizi çalışmada; FM ve diğer kronik ağrı sendromlarında; talamusta kan akımının azalmış olduğu gözlenirken, akut ağrılı durumlarda ise talamusta kan akımının artmış olduğu saptandığı bildirilmektedir. İstirahat durumunda serebral kan akımının FM hastalarında talamus ve kaudat nükleusta belirgin düzeyde azaldığı gözlenmiş ve bu bulgunun FM hastalarında azalmış ağrı eşiği ile alakalı olabileceği öne sürülmüştür (54-58). Ancak Kwiatek ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptığı bir çalışmada ise; sağ hemitalamus ve inferior pontin tegmentumunda azalmış kan akımı tespit edilmişken, sol hemitalamus ve her iki kaudat nükleusta herhangi bir fark gözlenmediği bildirilmektedir (59).

### **İmmunolojik Mekanizmalar:**

FM sendromunda enflamatuar bir süreç olmamakla birlikte, hastalıkta karşılaşılan hiperaljezi, allodini, yorgunluk, uyku bozukluğu, anksiyete, bilişsel disfonksiyon gibi semptom ve bulgular araştırmacıları sitokinlerinin patofizyolojideki rolünü incelemeye yöneltmiştir (60, 61). FM hastalarının yaklaşık yarısı şikayetlerinin grip benzeri ateşli bir hastalığı takiben başladığını belirtmektedir (62).

Son yıllarda TNF alfa, IL-1 $\beta$ , IL-6 ile IL-8 gibi sitokinlerin sempatik sinir sistemi ve hipotalamo-pitüiter-adrenal aks regülasyonunda etkili olabilecekleri görüşü hakim olup yapılan çalışmalarda bu sitokinlerin direkt santral ve periferik nöropatik ağrının oluşumunda rol oynadıkları gösterilmiştir (1, 60, 61). Beyin ve spinal kortta bu proinflamatuvar sitokinler glialar tarafından salınmakta ve şiddetli ağrı oluşturucu etkileri bulunmaktadır (63).

81 FM hastası ve 32 sağlıklı kontrol grubu üzerinde yapılan bir çalışmada serum IL-2 reseptörü ve IL-8 düzeyleri tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma

sonucunda hasta grubunda IL-2 reseptör düzeyi ve IL-8 düzeyi belirgin olarak yüksek bulunmuş ve IL-8 düzeyinin ağrı şiddeti ile pozitif bir korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (64). FM sendromunda sitokinlerin rolü üzerinde detaylı bir şekilde durulmuş ve gelecekte antisitokin tedavilerin FM tedavisinde yer alabileceği ileri sürülmüştür (61).

FM sendromunda antinükleer antikor (ANA) pozitifliğini inceleyen çalışmalar mevcuttur. Bir çalışmada ANA pozitifliğinin, FM hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre farklı olmadığı bildirilmiştir (65). Yapılan bir başka çalışmada ise FM hastalarında tespit edilen ANA pozitifliği veya titrasyonu ile klinik bulgular arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır (66).

Özet olarak, yapılan çok sayıdaki araştırmalarda yeni etiyolojik sebepler üzerinde durulmakla beraber, bugün için FM ile ilgili spesifik immünolojik bir bozukluk veya enfeksiyöz bir tetikleyici faktör ilişkisini gösterecek yeterli kanıt mevcut değildir (1).

### **Diğer Olası Nedenler**

#### **Genetik Faktörler**

FM hastalığında ailesel bir yatkınlık olup olmadığı araştırılmış ancak, hastalık ile herhangi bir Klas II MHC antijeni arasında ilişki gösterilememiştir. Ayrıca FM hastalarında; kas mikrotravmaları ve nörohormonal disfonksiyon gibi ağrı semptomuna katkıda bulunan durumlara genetik yatkınlık olabileceği ileri sürülmektedir (21).

#### **Fiziksel Travma**

FM hastalarının %14-23'ünde semptomların fiziksel yaralanma, travma veya cerrahi girişim sonrası başladığı bildirilmiştir. Ancak bu hastalarda fiziksel travma ile kronik ağrı arasında doğrudan bir ilişki gösterilememiştir (21, 67). Fiziksel

travmanın, C liflerinde Substans P seviyesinde değişikliğe yol açabileceği ve santral kaynaklı ağrıya neden olabileceği belirtilmektedir. Ayrıca hareketsizlik ve sakatlanma sonucu FM semptomlarının başlayabileceği bildirilmektedir (68).

## 2.2. Klinik Bulgular

FM sendromunun en belirgin özelliği 3 aydan uzun süren, vücudun hem üst hem de alt tarafında hissedilen yaygın ağrıdır. Hastalar tarafından iskeletten özellikle kaslara ve vücudun geniş alanlarına doğru yayılan, 'bitkinleştirici', 'sıkıntı verici' veya 'dayanılmaz' bir ağrı şeklinde tarif edilmektedir. Bunun yanı sıra eklem ağrısı ile birlikte subjektif eklem şişliği de tarif edilmektedir. Ancak, sabah tutukluğunun belirgin olduğu FM hastalarında eşlik eden romatizmal bir hastalık olmadığı zaman fizik muayenede herhangi bir objektif bulgu saptanamamaktadır. FM hastaları hafif bir dokunmadan hatta hafif bir esintiden bile rahatsızlık duyabildiğini belirtmektedir. FM hastaları ciltte 'yanma' hissi yakınması da tarif edebilmektedir. FM hastalarında herhangi bir dermatoma uymayan parasteziler yaygın olarak gözlenmektedir (69).

FM hastalarında ağrıdan sonra oldukça sık rastlanan bir semptom olarak yorgunluk tarif edilmekte ve bazı hastalarda ağrının da önüne geçebilmektedir. Yorgunluk genellikle gün boyu devam eder niteliktedir. Bu durum hastanın günlük yaşamını önemli oranda etkileyebilmekte ve özellikle ağır fiziksel aktiviteyi takiben en üst seviyeye ulaşmaktadır (70). FM hastalığında yorgunluk; zihinsel veya fiziksel aktivite sonrası oluşan bir bitkinliktir. Yorgunluk, iş kapasitesinde ve iş veriminde azalmaya sebep olmaktadır (71).

Uyku bozukluğu FM hastalarında yaygın olarak gözlenen bir semptomdur. Uyku bozukluğu hastaların yaklaşık %75'inde görülmektedir. Hastalar geceleri sık sık uyandıklarını, sabah yorgun olarak kalktıklarını ve tekrar uyumakta zorluk çektiklerini ifade etmektedirler. Hastalar uykularının hafif olduğunu, yatakta sık döndüklerini ve hareket ettiklerini belirtmektedirler (72-74).

## **2.2.1. Sendroma Eşlik Eden Belirtiler**

### **Psikolojik bulgular**

FM hastaları genellikle asabi, kuralcı, huzursuz ve ifade güçlüğü içinde bir görünüm sergilemekle beraber, somatizasyon bozukluğu ve ruhsal çökkünlük de gözlenmektedir (75).

FM hastalarının yaklaşık olarak %30-40'ında psikolojik bulgular vardır. Bulgular arasında en sık gözlenenler depresyon, anksiyete ve streştir. İnsidans açısından FM hastalarındaki psikolojik problemler diğer romatolojik hastalıklardaki psikolojik problemlerle benzerlik göstermektedir (76,77).

### **Baş ağrısı**

Migren ve migren dışı baş ağrıları FM hastalarının %28-58 arasında değişen oranlarda gözleendiği bildirilmektedir (53).

### **Dismenore**

FM hastalarında dismenore ve premenstrüel sendrom sık gözlenen yakınmalar arasındadır. Dismenore hastaların yaklaşık olarak %40-50'sinde görülmektedir (78).

### **İrritabl Kolon Sendromu**

İrritabl kolon sendromunun FM hastalarında gözlenme sıklığı yaklaşık olarak %60 civarındadır. Karın ağrısı, konstipasyon, diyare ve abdominal distansiyon bu rahatsızlığın belirtileri arasındadır (17).

## **Ağız ve Göz Kuruluğu**

Sikka semptomlarına benzer kuruluk bulguları görülebilir. Ağız kurumasının nedeni bilinmemekle birlikte, herhangi bir ilaç kullanımına bağı olmaksızın gelişen bir durumdur. FM hastalarında ağız ve göz kuruluğu semptomlarının görülme sıklığı yaklaşık olarak %12 civarındadır (65).

## **Kadın Üretral Sendromu**

FM hastalarında üriner sistem ile ilgili şikayetler de görülmektedir. Bu şikayetler arasında; idrara sık çıkma, dizüri ve suprapubik rahatsızlık hissi bulunmakta ve bu semptomların birlikte görüldüğü rahatsızlık “kadın üretral sendromu” olarak isimlendirilmektedir. Hastalar özellikle geceleri idrara sık çıkmaktadırlar ve idrar kültürlerinde genellikle herhangi bir patoloji saptanmamaktadır (78, 79).

## **Raynaud Fenomeni**

FM hastaları genellikle ekstremitelerinin soğukta renk değıştirdiğinden ve soluklaştığından şikayet etmektedirler. FM hastaları üzerinde yapılan ACR, çok merkezli çalışmasında ekstremitelerde soluklaşmanın gözlenme sıklığını %9 olarak belirlemiştir (18). Yapılan diğer çalışmalara bakıldığında; Gürer ve arkadaşları FM hastalarında Raynaud Fenomeni'nin %27.5 civarında olduğunu, Yunus ve arkadaşları ise %9 civarında olduğunu ancak Raynaud Fenomeni'nin sağlıklı kontrol grubunda da %3 civarında görüldüğünü belirtmektedirler. (18, 80, 65).

## **Diğer belirtiler**

Ayrıca FM hastalarında çarpıntı, göğüs ağrısı, nefes darlığı, çene ağrısı, baş dönmesi, karın ağrısı, huzursuz bacak sendromu, fotosensitivite, kognitif problemler (düşünme, konsantrasyon bozukluğu ve bellek bozuklukları), mitral valv prolapsusu



ve temporomandibular eklem disfonksiyonu gibi birçok semptom ve bulgular içermektedir. (81).

**Tablo 1:** FM’ de görülen semptomlar ve sıklıkları (82)

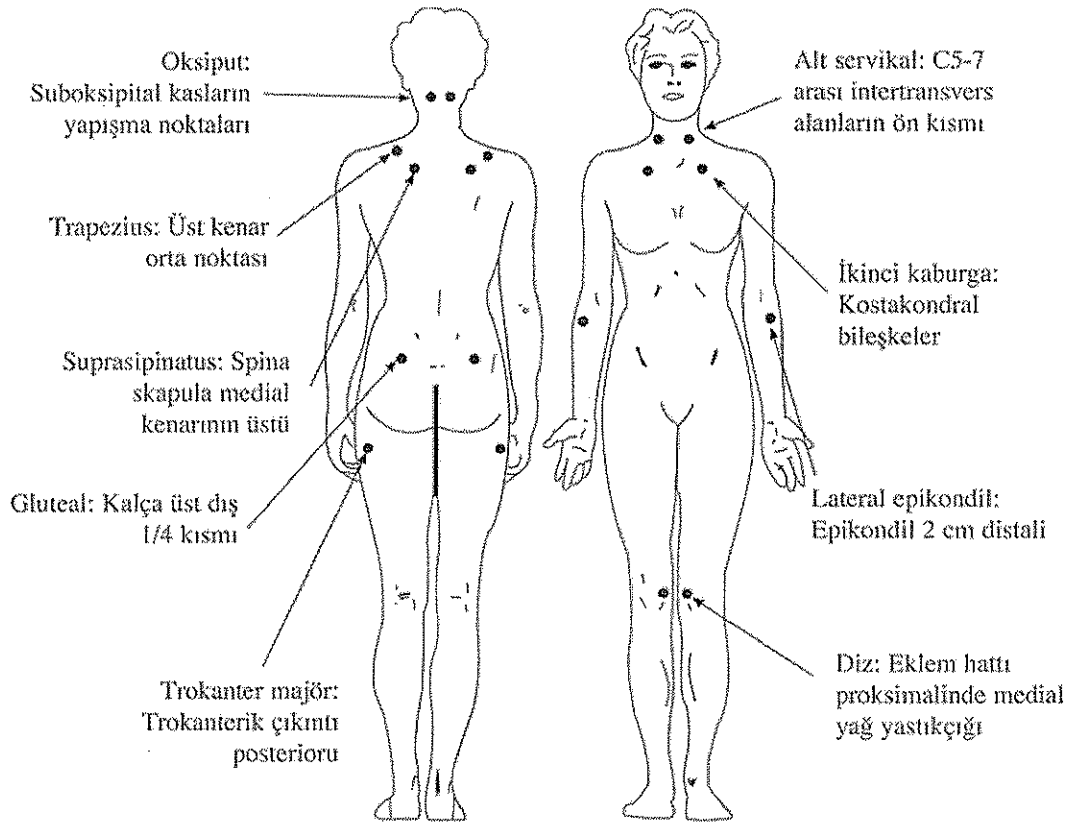
<b>Spesifik olmayan Nörolojik</b>	<b>Nörolojik</b>
- Aşırı yorgunluk: % 66- 82	- Baş ağrısı: %66- 82
- Uyku bozuklukları: %66- 75	- Paresteziler: %66- 75
- Kuru göz: %10	<b>Genitoüriner</b>
- Raynaud sendromu: %17	- İdrar kaçırma: %26- 32
<b>Kas – iskelet</b>	-Dismenore: %26
- Sabah sertliği: %76- 77	<b>Psikiyatrik</b>
<b>Gastrointestinal</b>	- Depresyon: %32- 48
- İrritabl kolon sendromu:% 30- 48	- Anksiyete: %28- 48

### 2.2.2.Fizik Muayene Bulguları

#### Hassas noktaların palpasyonu

FM tanısı ACR tarafından 1990 yılında oluşturulmuş kriterlere dayanmaktadır (83, 84, 18). Bir kişiye FM tanısı koyulabilmesi için; en az üç aydır devam eden yaygın ağrı olması ve bu yaygın ağrının 18 hassas noktadan 11’inde palpasyonla hissedilmesi gerekmektedir. Hassas noktalar Şekil 1’de ve Tablo 2’de gösterilmiştir.

Hassas noktalarda sadece basınç uygulandığı bölgede ağrı meydana gelmekte ve yansıyan ağrı gözlenmemektedir. Hassas noktalara uygulanan basınç; muayene eden kişinin tırnak yatağının beyaz olmasına sebep olacak kadar veya yaklaşık olarak başparmakla 4 kg civarında basınç uygulanması yeterlidir. Muayene sırasında dolorimetri olarak bilinen bir cihaz, tam 4 kg basınç uygulamak için kullanılabilir (85).



**Şekil 1:** ACR kriterlerinde kullanılan 18 hassas nokta (86)

**Tablo 2:** FM'de hassas noktaların lokalize oldukları anatomik bölgeler (18)

<b>Hassas Noktalar (iki taraflı)</b>	
1. Oksipital bölge	Suboksipital kas insersiyonları
2. Alt servikal	C5-C7 intertransvers bölgelerinin önünde
3. Trapezius	Üst sınırının orta noktasında.
4. Supraspinatus	Kasların yapışma yerlerinde, spina skapula üzerinde orta sınıra yakın.
5. İkinci Kosta	2. kostokondral birleşim yerinde, üst yüzeylerin hemen dışında
6. Lateral epikondil	Epikondillerin 2 cm. distalinde.
7. Gluteal	Kalça üst kadranında kasın ön kıvrımında.
8. Büyük trokanter	Trokanterik çıkıntının arkasında
9. Diz	Eklem çizgisi proksimalindeki medial yağ yastıkçığında

Klinik değerlendirme sırasında hassas nokta sayımının her zaman yapılamaması veya yanlış yapılması sonucu semptomlara bağlı tanı konulabilmesi yoluna gidilmektedir. 1990 yılındaki ACR tanı kriterleri içerisinde yorgunluk ve bilişsel bozukluk gibi bulguların yer almaması ve semptom şiddeti hafifleyen hastalarda hassas nokta sayısının azalmasına bağlı olarak tanı koymada zorluklar yaşanmaktadır. Bu sebeplerden dolayı ACR tarafından 2010 yılında, 1990 ACR tanı kriterlerinin yerini almayan fakat birinci basamak sağlık hekimi ve hassas nokta muayenesini bilmeyen klinisyenlere alternatif metod olabilecek, hassas noktaların olmadığı ve semptom şiddet skalası içeren yeni tanı kriterleri yayınlanmıştır. (87). Tanı konulabilmesi için Tablo 3'de gösterilen bu kriterlerden 3 tanesinin de olması gereklidir.

**Tablo 3:** 2010 ACR Tanı kriterleri (87)

- 
1. Yaygın ağrı indeksi  $\geq 7$  ve semptom şiddet skalası skoru  $\geq 5$  veya  
Yaygın ağrı indeksi 3-6 arasında ve semptom şiddet skalası skoru  $\geq 9$  olması
  2. Semptomların aynı düzeyde en az 3 aydır olması
  3. Hastada ağrıyı açıklayacak başka bir bozukluğun olmaması
- 

### 2.2.3. Ayırıcı Tanı:

Ayırıcı tanıda en sık karışıklığa sebep olan hastalıklar; miyofasiyal ağrı sendromu ve kronik yorgunluk sendromudur (21).

- Miyofasiyal ağrı sendromu: Kas veya fasiyalarda tetik nokta ve gergin bantların varlığıyla karakterize bir yumuşak doku romatizmasıdır. Bu noktaların uyarılmasıyla oluşan yansıyan ağrı, duysal değişiklikler ve lokal seğirme cevabı miyofasiyal ağrı sendromu için tipiktir.

- Kronik yorgunluk sendromu: Açıklanamayan ve en az 6 ay süren yorgunlukla birlikte; uyku bozukluğu ve psikiyatrik bozuklukların eşlik ettiği kronik ve tedavisi zor bir kas-iskelet sistemi rahatsızlığıdır. Kronik yorgunluk sendromu daha çok kadınlarda ve 30-40 yaş arasında sık görülmektedir. Genellikle bir

enfeksiyonu takiben ortaya çıkan; ağrılı lenfadenopatiler, boğaz ağrısı, kas güçsüzlüğü, miyalji, artralji, uyku düzensizliği, nöropsikolojik semptomlar, egzersiz sonrası 24 saatten daha uzun süren yorgunluk gibi semptom ve bulgulara sahiptir (21,14).

Bu rahatsızlıkların dışında ayırıcı tanıda bursit/tendinit, tuzak nöropatileri, osteoartrit gibi kas iskelet sistemi rahatsızlıkları ve romatoid artrit, ankilozan spondilit, polimiyalji romatika, sistemik lupus eritematosus gibi romatolojik hastalıklar da göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca hipotiroidi ve akromegalinin erken döneminde de yaygın ağrı semptomu gözlenebildiği bilinmektedir (88).

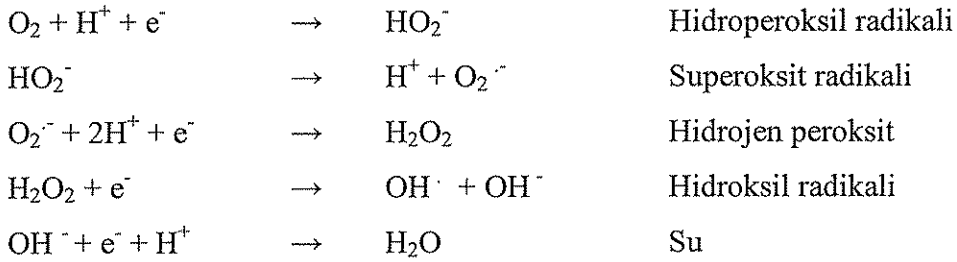
#### **2.2.4. Laboratuvar ve Görüntüleme**

FM sendromunda laboratuvar ve radyolojik incelemeler tanıya katkıdan ziyade ayırıcı tanıya yardımcı olmaktadır (89). FM sendromunda rutin laboratuvar testleri, serolojik testler, röntgen, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans, sintigrafik yöntemler ve EMG incelemeleri herhangi bir patoloji tespit edilememektedir. Şüpheye düşüldüğü takdirde ayırıcı tanı açısından tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı, rutin kan biyokimyası ve tiroid hormonları incelenmesi önerilmektedir. Eşlik eden artrit, diskopati gibi bir durum yoksa veya başka bir hastalık düşünülüyorsa, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans gibi radyografik incelemelere ve sintigrafik yöntemlere gerek yoktur. Lyme antikoru gibi serolojik testler sağlıklı kişilerde de pozitif olabileceğinden ve FM hastalarında rutin olarak başvurulmamalıdır (90). Enflamatuvar veya metabolik miyopati düşündüren klinik bulgu yoksa, biyopsi yapılmasına gerek olmamaktadır. Uykuda çekilen EEG'de görülen patolojik bulgu ve nöroendokrin testler şu anda tanısal test olarak kullanılmamaktadır (17).

### 2.3.Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller; bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküller olup, eşlenmemiş elektronlar bulunması sebebiyle oldukça reaktif yapıdadırlar (91).

Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile süperoksit radikali ( $O_2^-$ ), iki elektron alarak indirgenmesi sonucunda hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), üçüncü elektron eklenmesi sonucunda yüksek derecede reaktif olan hidroksil radikali ( $OH^-$ ), dördüncü elektron ilavesi sonucunda ise su ( $H_2O$ ) oluşmaktadır (92,93).



Serbest radikallerin fazla miktarlarda üretimine yol açan durumlar, hücrede oksidan/antioksidan dengesinin bozulmasına ve detoksifiye edilemeyen radikallerin hücresel yapıları oksidasyona uğratmasına, sonuç olarak birçok hastalığın oluşumuna neden olmaktadır (94).

Serbest radikaller üç temel yolla oluşmaktadır:

- Isı, radyasyon ve elektromanyetik dalgalar ile kovalent bağların kırılmasıyla,
- Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sonrası dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalmasıyla
- Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron bulunmasıyla oluşabilmektedir. (95, 96).

Aşırı miktarda üretilen reaktif oksijen türleri direk proteinlere zarar vererek hücrel hasara neden olmakta ve indirekt olarak ise daha zararlı reaktif türleri oluşturarak radikal zincir reaksiyonlarını başlatmaktadır (92).

Enflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı ( $pO_2$ ), ozon ( $O_3$ ), nitrik oksit ( $NO_2$ ), kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı faktörler reaktif oksijen türlerinin oluşumunu artırmaktadırlar (97). Bu etkenlerin yanı sıra hipoksinin dokularda serbest radikal üretimini artırıcı rolü olduğu ve oksidatif stresin oluşmasına yol açtığı bilinmektedir (98). Serbest radikaller hücrelerin protein, karbonhidrat, lipid, DNA ve enzim gibi önemli yapılarına etki ederler (97). Serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemindeki nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gereklidir ancak endojen serbest radikallerin fazla üretimi oksidatif strese yol açarak doku hasarına ve hücre ölümüne neden olur (99).

Monosakkaritlerin otooksidasyonu neticesinde hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitler oluşmaktadır. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstermekte; kanser ve yaşlanmaya sebep olabilmektedirler (100). Lipitler, proteinlere göre serbest radikallere karşı daha hassastır. Protein oksidasyonu; peptit bağlarının veya aminoasit yan zincirlerinin, reaktif oksijen türleri veya oksidatif stres ürünleri ile kovalent modifikasyonu sonucu oluşmaktadır. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle olan etkileşimi fazladır. Bu reaksiyonlara bağlı olarak albumin ve IgG gibi çok sayıda disülfid bağlarına sahip olan proteinlerin tersiyer yapıları ve fonksiyonları bozulmaktadır. Protein yapısında olan enzimlerde ise aktivite değişiklikleri meydana gelmektedir (101-103).

Hidroksil radikali DNA'da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli mutajenik ürünler oluşturmaktadır. Ayrıca DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna sebep olmaktadır. Hidroksil radikali DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olabilmektedir. Hücrel savunma sistemleri tarafından tamir edilemeyecek

kadar ciddi hasar sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelmektedir (104,105).

Reaktif oksijen türlerinden en çok etkilenen biyomoleküller lipitlerdir. Hücre membran yapısı, poliansatüre yağ asitlerinden ve kolesterolden zengin olduğu için kolaylıkla oksidan radikallerinden etkilenmektedir. Lipid peroksidasyonu; doymamış lipitlerin bulunduğu yerlerde, moleküler oksijenin de katıldığı reaksiyonlarla gerçekleşmektedir. Lipid peroksidasyonu lipit hidroperoksitlerinin olduğu kompleks işlemdir. Bu reaksiyon otokatalitik ve geri dönüşümsüz olduğundan dolayı oldukça zararlıdır (106).

Lipit peroksidasyonu, zar yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomunun koparılmasıyla başlamakta ve lipit radikali meydana gelmektedir. Lipit radikali zayıf bir bileşiktir ve birçok değişikliğe uğrayabilmektedir. Lipit peroksit radikalleri (LOO•), diğer çoklu yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumuna sebep olmakta ve ortaya çıkan hidrojen atomu ile birleşerek lipit hidroperoksitlerini (LOOH) meydana getirmektedir. Peroksitler, otokatalitik zincir reaksiyonunu başlatmakta ve bunun sonucunda şiddetli zar hasarı oluşturmaktadır (107, 108).

### **2.3.1. Antioksidan Sistem**

Bir savunma mekanizması olarak, hücreler enzimatik ve nonenzimatik mekanizmalar ile toksik reaktif oksijen türlerine karşı savaşmaktadır. Dolayısıyla meydana gelen doku hasarı; reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve antioksidan seviyesi arasındaki dengeye bağlıdır (109, 110). Organizma içindeki serbest radikaller, geri dönüşümsüz hücre hasarına yol açan birçok reaksiyona neden olmaktadır. Süperoksit ve hidroksil radikalleri hücresel, mitokondrial, nükleer ve endoplazmik zarlarda lipit peroksidasyonunu başlamasına yol açmaktadır. Geçirgenliğin artışı mitokondrial hasara neden olan kalsiyum iyonunun hücreye akın etmesine neden olmaktadır (111).

Organ ve hücreleri, reaktif oksijen türlerine karşı savunmak için organizma kompleks bir sistem geliştirmiştir. Bu sistem endojen ve eksojen kaynaklı, etkileşimli ve birlikte çalışan çeşitli bileşenlerden oluşmaktadır (112). Antioksidan sistem hasar öncesi radikal oluşumunu önlemekte ve oksidatif hasarı onarmaktadır. Ayrıca hasara uğramış molekülleri temizlemekte ve mutasyonları önlemektedir. Nötralize olması gereken çeşitli reaktif ara ürünleri ve indirgenmesi gereken okside biyomolekülleri kontrol eden hem lipofilik hem hidrofilik fazda pek çok antioksidan türü bulunmaktadır (113).

Antioksidanlar hücre içi, hücre dışı ve zar antioksidanları olarak sınıflandırılabilir.

- Hücre içi antioksidanlar: süperokit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon S transferaz, glutatyon redüktaz,
- Zar antioksidanları: E vitamini,  $\beta$  karoten, koenzim Q,
- Hücre dışı antioksidanlar: Transferrin, laktoferrin, haptogloblin, hemopeksin, albumin, seruloplasmin, ekstrasellüler süperoksit dismutaz (SOD), ekstrasellüler GSH-Px, bilirubin ve askorbik asit gibi biyomoleküllerdir (105).

Antioksidan özelliğiyle öne çıkan bir başka enzim de PON-1'dir. Özellikle kardiyovasküler hastalıklarda plazma lipitlerinin oksidasyonunu önlemedeki rolünü içeren birçok çalışma mevcuttur. Bunun yanı sıra diyabet, sepsis, alzheimer ve parkinson gibi diğer birçok hastalıkla ilişkisini araştıran çalışmalar mevcuttur (13).

Organofosfat nörotoksinleri, aromatik karboksilik asit esterlerini ve insektisidleri hidroliz etme yeteneği, PON-1'nin en iyi bilinen koruyucu fonksiyonudur (114). Ayrıca PON-1'in belirlenen diğer biyolojik fonksiyonu ise antioksidan aktivite göstermesidir. PON-1 plazmada yüksek yoğunluklu lipoproteinlerde (HDL) ile birlikte bulunmakta ve plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunu önlemede rolü bulunmaktadır. Peroksidasyona uğramış olan lipidler bu enzim tarafından metabolize edildiğinden, lipid peroksidlerinin hem HDL'de hem



de düşük yoğunluklu lipoproteininde (LDL) birikimi önlenmektedir. Bu özelliği nedeniyle, HDL'nin LDL'yi oksidasyona karşı koruyucu etkisinden PON-1 sorumludur (115, 116). Oksidatif stres altında lipoproteinlerin dışında hücrenin yapısındaki lipidler de lipit peroksidasyonuna uğramaktadır. PON-1, lipit peroksidatlarının aterojenik etkilerini nötralize etmekte ve hücre membranlarının korunmasında önemli role sahip olmaktadır. (117).

### 2.3.2. FM ve Oksidatif Stres

Son yıllarda FM patofizyoloji bakımımızda önemli gelişmeler olmasına rağmen, FM etyolojisi ve patojenik mekanizmaları hala tam olarak bilinmemektedir. FM sendromu araştırmacılar ve klinisyenler için zorlu bir klinik tablo olmaya devam etmektedir (2-4).

FM patogenezi üzerine olan araştırmalar temel olarak altı alanda yoğunlaşmaktadır. Bunlar; kaslarda mikrodolaşım sal değişiklikler, serotonin metabolizasında gözlenen değişiklikler, nöroendokrinolojik değişiklikler, otonom sinir sisteminde gözlenen değişiklikler, psikolojik ve psikiyatrik anormalliklerdir (118). Bozulmuş mikrodolaşıma bağlı lokal hipoksi teorisi FM etyopatogeneziyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu teoriye göre FM'li hastaların hassas noktalarında vazokonstriksiyon olmaktadır (8). Hipoksinin birçok inflamatuvar hastalıkta reaktif oksijen türlerinin üretimini arttırdığı, antioksidan seviyelerini ise düşürdüğü bilinmektedir (119-121).

FM etyopatogenezinde serbest radikallere bağlı oksidatif hasarın rolü daha önce yapılan çalışmalar ile birçok defa araştırılmıştır. FM patofizyolojisinde; kaslar üzerindeki hassas noktalarda lokal hipoksi olduğu, hassas noktalarda oksijen basıncının normal olmadığı ve hassas noktalarda mikrodolaşım sal bozuklukların olduğu tespit edilmiştir. (5-7) FM hastalarında adenosin difosfat ve kreatin fosfat seviyelerinde azalma ve adenosin monofosfat ve kreatin seviyelerinde ise artma olduğu tespit edilmiştir (8).

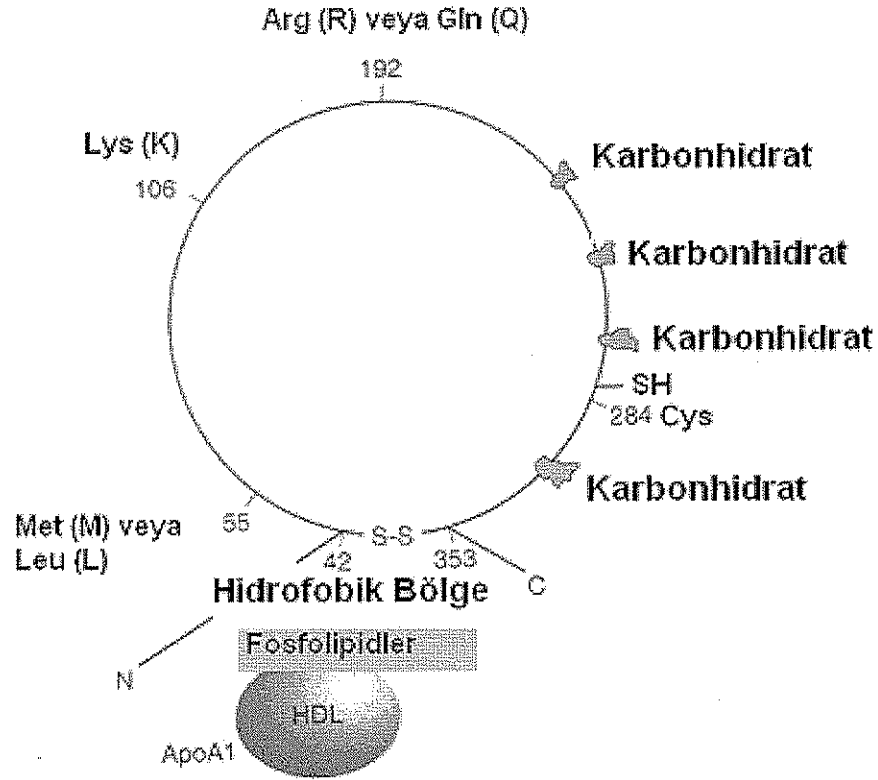
FM ile oksidatif stres belirteçleri ve antioksidan enzimlerin ilişkisini araştıran çalışmalarda lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan MDA ve protein peroksidasyonunun bir göstergesi olan protein karbonil seviyelerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olarak tespit edildiği bildirilmektedir (9-12). FM hastalarında nitrik oksit, katalaz, glutatyon seviyelerinin incelendiği bir araştırmada; glutatyon ve katalaz seviyeleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düşük tespit edilmiştir. Nitrik oksit seviyesinde ise anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (122).

Antioksidan savunma sisteminin güçlü bir enzimi olan SOD, FM grubunda kontrol grubuna göre azalmış olarak tespit edilmiştir (9). Bunun yanısıra total antioksidan seviyesinin (TAS) FM'li hastalarda azalmış olduğu gözlenmektedir (123). Ayrıca vitamin A, C ve E seviyelerinin araştırıldığı bir çalışmada, Vit A ve E seviyelerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edilmiştir (11).

#### **2.4. Paraoksonaz-1 (PON-1) Enzimi**

PON-1, paraoksonaz (E.C.3.1.8.1) ve arilesteraz (E.C. 3.1.1.2) aktivitesine sahip, glikoprotein yapısında olan kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır (124). Paraokson, metil paraokson ve klormetil paraoksona yüksek derecede ilgi gösterdiğinden paraoksonaz olarak isimlendirilmiştir (125).

İnsan serum PON-1'i, 354 aminoasitten meydana gelen, 43 kDa molekül ağırlığında bir glikoproteindir (126). Yapısında üç karbonhidrat zinciri içermekte ve bu zincirler toplam ağırlığının %15.8'ini oluşturmaktadır. İzoelektrik noktası 5.1'dir. Aminoasit içeriği açısından; üç sistein aminoasidi bulundurmakta ve lösinin fazla miktarda bulunması dışında herhangi bir özellik göze çarpmamaktadır. 284. pozisyondaki sistein serbest iken, diğer ikisi (Cys 42-352) arasında disülfid bağı bulunmaktadır (Bkz. Şekil 2). Serbest sistein, substrat tanınması ve bağlanması için gereklidir (127).



**Şekil 2:** PON-1 enziminin yapısı (128)

Enzimin merkez kısmında, yapı ve katalitik aktivitesinin korunması için gerekli olan iki kalsiyum atomu bulunmaktadır. Enzimin yapısında bulunan kalsiyum atomlarından bir tanesinin yapıdan uzaklaştırılması halinde geriye dönüşümsüz denatürasyon meydana gelmektedir. Diğer kalsiyum atomu ise katalitik etkinlikte görev almakta ve fosfat iyonunun oksijeni ile etkileşmektedir (129). PON-1'in organofosfat substratlarına karşı hidrolitik aktivitesi kalsiyuma bağımlı iken, lipid peroksidlerin oluşumunu önlemede kalsiyumun gerekli olmadığı bildirilmektedir (130).

Kalsiyuma bağımlı bir ester hidrolaz olan PON-1 enzimi, HDL'de bulunmaktadır ve karaciğerde sentezlenmektedir (131). PON-1, hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL'ye kolayca bağlanabilmektedir. PON-1'i bağlayan HDL alt birimleri, apolipoprotein AI ve klusterin proteinlerini içerdiğinden, bu proteinlerin bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (132).

#### 2.4.1.PON-1 Enzim Fonksiyonu ve Substratları

Organofosfat bileşiklerinden paratyonun aktif katabolik metaboliti olan paraokson (o,o-dietil-o-p-nitrofenil fosfat), enzime adına verdiği gibi, aktivite tayininde en çok kullanılan substratlardan birisidir (133).

PON-1 enziminine özgü substrat sayısı oldukça fazladır. Çalışmalarda PON-1'in arilesteraz, organofosfataz ve laktonaz aktivitelerine sahip olduğu belirtilmektedir. PON-1 tarafından hidrolize edilen bileşiklerden olan organofosfatların (paraokson ve diazokson), sinir gazı ajanlarının (somon, sarin, tabun) ve aromatik esterlerin (fenilasetat) PON-1'in fizyolojik olmayan substratları olduğu tespit edilmiştir (117). PON-1 enziminin substratları Tablo 4' de gösterilmiştir.

**Tablo 4:** PON 1 Enziminin substratları (134)

<b>Organofosfatlı bileşiklerin okson metabolitleri</b>	<b>Aril (aromatik) esterler</b>
paraokson	fenil asetat
metil paraokson	tiofenilasetat
pirimifos-metil okson	2-naftilasetat
klorprifos okson	<b>Aromatik laktonlar</b>
diazokson	<b>Alifatik laktonlar</b>
klortion okson	dihidrookumarin
EPN okson	$\gamma$ -butirolakton
fenitrokson	homosistein
<b>Sinir Gazları</b>	tiolakton
soman	<b>Siklik karbonatlar</b>
sarin	prulifloksasin
tabun	<b>Fosfolipit hidroperoksitler</b>
armin	

PON-1 enzim aktivitesini ölçmek için genel olarak iki farklı substrat kullanılmaktadır. Paraoksonaz aktivitesini ölçmek için substrat olarak paraokson, arilesteraz aktivitesini ölçmek için ise fenil asetat kullanılmaktadır (135).

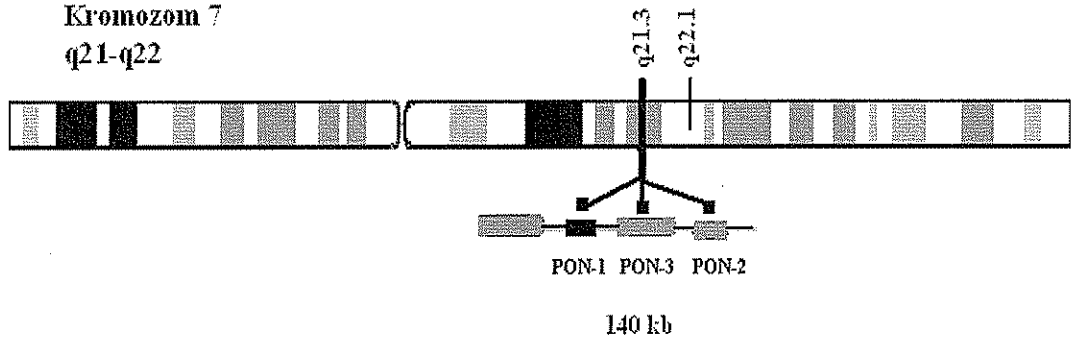
PON-1'in paraokson ve fenilasetatı hidroliz edebilmesi yanında; diğer aromatik karboksilik asit esterleri, karbamatları, fosfolipid peroksitlerinde ve kolesterol ester peroksitlerinde ve benzer bileşiklerde bulunan O-P arasındaki ester bağı hidroliz ettiği bildirilmektedir (136).

Ayrıca son yıllarda PON-1'in laktonaz aktivitesi üzerinde durulmaktadır. Endojen bileşiklerin lakton formları ve lakton içeren ilaçların PON-1 tarafından hidroliz edildiği gösterilmiştir (137). PON-1'in gliserofosfolipid peroksitleri, kolesteril ester hidroperoksitleri ve hatta H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi redükleyebileceği bildirilmektedir. PON-1, LDL yapısındaki fosfolipidlerin oksidasyona uğramış poliansatüre yağ asitlerini hidroliz edebilmektedir (138).

Oksidatif stres altında lipoproteinlerle birlikte hücre yapısında bulunan lipidler de peroksidasyona uğramaktadır. PON-1, lipid peroksitlerinin aterojenik etkilerini nötralize etmektedir ve hücre membranlarını koruyucu etki göstermektedir. (117, 139).

#### **2.4.2.Paraoksonaz (PON) Gen ailesi**

İnsanlarda ve farelerde aynı kromozom üzerinde, birbirine komşu PON-1, PON-2 ve PON-3 olmak üzere üç ayrı PON geni bulunmaktadır. Farelerde altıncı kromozom üzerine yerleşen PON genlerinin, insanlarda yedinci kromozomun uzun kolunda, q 21.3 bölgesinde buldukları bildirilmektedir (13). (Şekil 3)



**Şekil 3:** PON-1, PON-2 ve PON-3 genlerinin insan 7. kromozomu q21. ve q22. bantları üzerindeki yerlerinin gösterimi (140)

Üç PON proteininin aminoasit dizileri yaklaşık olarak %53 oranında birbirleriyle benzerlik göstermektedir. Bu üç proteinin dokulardaki ekspresyonları ve dağılımları birbirinden farklılık göstermektedir. PON-1 ve PON-3 karaciğer ve plazmada bulunmasına rağmen, PON-2 karaciğer, böbrek, kalp, beyin, testis gibi dokuların endotel tabakasında sık olarak bulunduğu, ayrıca aortik düz kas hücrelerinde de yer aldığı çeşitli yöntemlerle gösterilmiştir.

PON gen ailesinden PON-1, tanımlanan diğer PON genleriyle (PON-2, PON-3) kıyaslandığında uzun yıllardır çalışılmış ve biyokimyasal fonksiyonu daha iyi aydınlatılmış olanıdır (13).

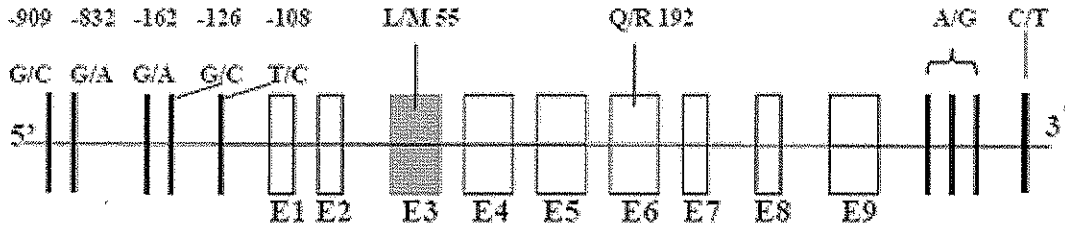
#### 2.4.3. PON-1 Polimorfizmi

PON-1'de gözlenen iki polimorfizm; 55. kodonda metionin (M) ile lösinin (L) yer değiştirmesiyle oluşan 55 L/M ve diğeri ise 192. pozisyonda glutamin ile argininin yer değiştirmesi sonucu oluşan 192 Q/R 'dır (141,142).

PON-1 gen polimorfizmleri; 55. kodondaki metiyonin/lösin değişimi adenin ile timin bazlarının yer değiştirmesi sonucu meydana gelmektedir. 192. kodonda glutamin/arjinin değişimi ise adenin ile guanin bazlarının yer değiştirmesi sonucu

oluşmaktadır (143,144). Bu iki polimorfizm polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile tespit edilebilmektedir (145).

PON-1 55 L/M ve 192 Q/R kodlanma bölgesindeki polimorfizmlerinden başka PON-1'in promotor bölgesinde de polimorfizmler olduğu tespit edilmiştir. Bu polimorfizmler B107/B108 (C/T), B126 (C/G), B160/B162 (A/G), B824/B832 (A/G) ve B907/B909 (C/G) bölgelerde bulunmaktadır (146). PON-1 genindeki promotor bölgede gözlenen polimorfizmlerinin gen ekspresyonu ve enzimlerin serum düzeyleri üzerinde önemli etkisinin olduğu tespit edilmiştir (13,147). PON-1 geninde gözlenebilen polimorfizmler Şekil 4' de gösterilmiştir.



**Şekil 4:** PON-1 enzimi promotor bölgesi ve polimorfizmleri (dokuz adet ekzon (E1-E9). 5'promotor bölgedeki 5 polimorfizm, kodlayan bölgedeki 2 polimorfizm ve 3' translasyona girmeyen uçtaki 4 polimorfizm gözlenmektedir (148)

#### 192 Q/R Polimorfizmi

PON-1'in 192. konumunda arjinin (R) bulunduran izoziminin, glutamin (Q) bulunduran izozimine göre paraoksona karşı daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (144).

Daha çok çalışılmış olan PON-1 192 Q/R polimorfizminde, 192. pozisyonda arjinin bulunan homozigot bireylerin (R genotipi) serumunda paraoksonu hidroliz eden paraoksonaz aktivitesinin yüksek olduğu, glutamin bulunan homozigot bireylerde (Q genotipi) paraoksonaz aktivitesinin daha düşük olduğu, heterozigot bireylerde ise orta düzeyde aktivite gözlemlendiği bildirilmektedir. Buna karşılık QQ

allo enziminin lipid peroksidlerinin hidrolizinde daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (149,150).

Yapılan çalışmalarda düşük aktiviteli QQ allozim taşıma oranının yaklaşık olarak %40 civarında olduğu, yüksek aktiviteli RR allozim taşıma oranının ise %10 civarında olduğu ve bu allozimlerin arasında bir aktivite gösteren QR heterozigot allozimi taşıma oranının ise %50 civarında olduğu görülmüştür (143).

### **55 L/M Polimorfizmi**

Lösin/Metiyonin (L/M) 55 polimorfizmi, PON-1 enzim aktivitesini Q/R 192 polimorfizminden bağımsız olarak etkilemektedir. Substrat olarak paraokson kullanıldığı zaman, L55 taşıyan allozimin M55 taşıyan allozimden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Lösin/Metiyonin (L/M) polimorfizmi karaciğerdeki enzim ekspresyonunu etkilemekte ve bunun sonucunda enzimin serumdaki seviyesini belirlemektedir (151).

L55 alleli M55 allele göre daha çok eksprese olmaktadır. Böylece L55 alleli taşıyan bireylerin serumlarında PON-1 seviyesi daha yüksek olmaktadır. Ayrıca L55 izoformu M55 izoformuna göre daha stabil bir yapıdadır (152).

L/L allo enziminin, M/M allo enzimine göre paraoksani hidroliz etme aktivitesi daha yüksektir. Lipid peroksidasyonunda ise durum tam tersidir. Yani M/M allo enzimi lipid peroksidleri daha iyi hidroliz etmektedir (149,150).

PON-1 enzim aktivitesindeki değişiklik bireyler arasındaki farklılıklara bağlıdır. Aynı genotipe sahip bireylerin PON-1 enzim aktivitelerinde 13 kat farklılık gözlenebilmektedir. Enzimin seviyesini etkilemesi nedeni ile 55 L/M polimorfizmi sadece substrata spesifik enzim aktivitesinde değişikliğe neden olmamakta, aynı zamanda fenilasetat gibi polimorfizmden etkilenmeyen bir substrata karşı da enzim aktivitesinin değişmesine neden olmaktadır (153).



### **3.MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1.Olgular:**

Çalışmamıza 150 FM hastası ve 150 sağlıklı kontrol olmak üzere toplamda 300 kişi katılmıştır. Çalışmamızda hasta grubunu oluşturan bireyler, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon polikliniğine gelen FM sendromu tanısı konan hastalardır. Kontrol grubu olarak ise FM sendromu olmayan ayrıca sistemik herhangi bir hastalığı olmayan (Koroner kalp hastalığı, diyabet, karaciğer ve böbrek patolojisi gibi) bireylerin örnekleri kullanılmıştır. Çalışmamız için Gaziosmanpaşa Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 12-BADK-045 proje numarası ile gerekli onay alınmıştır.

Çalışmaya katılan bireylerin tam kan örnekleri antekübital venden, içinde disodyum etilendiamin tetraasetik asit (EDTA; 3 mg/L) olan bir tüpe alındı. 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildikten sonra ayrılan plazma örnekleri 1,5 ml 'lik tüplere konuldu. ELISA çalışması için ayrılan plazma örnekleri çalışılacağı güne kadar -80 °C buzdolabında muhafaza edildi. Plazma ayrıldıktan sonra EDTA'lı tüpte kalan kan örneği ise çalışma için gerekli örnek sayısı tamamlanıncaya kadar +4 °C buzdolabında muhafaza edildi.

#### **3.2.Kullanılan Ölçekler:**

Hasta grubuna FTR polikliniğinde Hassas Nokta Sayısı, FM Etki Sorgulaması (FES), Beck Depresyon Ölçeği (BDÖ), Vizüel Analog ağrı Skalası (VAS) gibi klinik değerlendirme için yardımcı ölçekler uygulanmıştır.

##### **3.2.1.Hassas Nokta Sayısı**

Yapılan çalışmada fizik muayene sırasında toplam 18 noktadan bakılan hassas nokta sayısı kaydedilmiştir.

### 3.2.2.FM Etki Sorgulaması (FES)

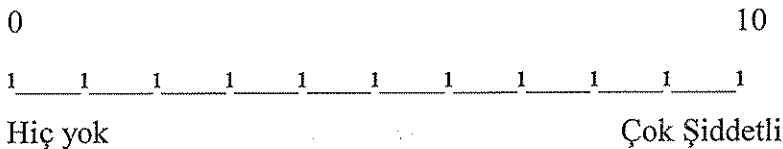
On maddeden oluşan FM tanılı hastaların durumlarını ve sonuçlarını takip eden ölçektir. İlk madde her biri 0–3 arasında puanlanan Likert tipi 10 soru içerir. İkinci ve üçüncü maddelerde ise hastalıktan etkilenme ve işe gidememe tespiti için gün işaretlemesi istenir. Elde edilen puan 10'a uyarlanır. Kalan yedi soru Görsel Eşdeğer Ölçeği'nde uygun yerin işaretlenmesi esasına dayanır. Puan aralığı 0–100'dür (154).

### 3.2.3.Beck Depresyon Ölçeği (BDÖ)

BDÖ, depresyonda gözlenen bedensel, duygusal, bilişsel ve motivasyonel belirtileri ölçmektedir. Her biri 0-3 puan arasında değerlendirilen 21 sorudan oluşan değerlendirme ölçeğidir. Olgular, son bir hafta içerisinde kendilerini nasıl hissettiklerini anlatan ifadeyi seçerler. Test sonuçları 0-63 arasındadır. 0-13 puan arası depresyon yok olarak değerlendirilirken, 14-24 puan arası orta derecede depresif yakınmalar ve 25 puanın üzeri ise yoğun depresif yakınmalar olarak değerlendirilmektedir (155).

### 3.2.4.Vizüel Analog Ağrı Skalası (VAS)

10 cm.lik bir hat üzerinde 0'dan 10'a kadar yerleştirilen sayıların anlamları hastalara anlatıldı. (Şekil 5) Hiç ağrı olmaması 0, hayatta hissedilen en şiddetli ağrı 10, orta derecede ağrının 5 puan olduğu ifade edildi. Bu açıklamalara göre hastalardan ağrılarını 10 cm' lik çizgi üzerinde işaretlemeleri istendi (156).



Şekil 5: VAS Ağrı Skoru (156)

### 3.3. PON-1 Seviyesinin ELİSA Yöntemi ile Tespit Edilmesi

PON-1 seviyesi USCN marka (Wuhan, P.R.C.) ticari ELISA kiti kullanılarak, tam otomatik ELİSA cihazında (Chemwell, USA) sandwich ELİSA yöntemiyle üretici firmanın test prosedürüne göre tespit edilmiştir.

Kitlerde PON-1'e karşı spesifik antikorlarla kaplı plate bulunmaktadır. Standartlar ve örnekler inbübe edildikten sonra enzim işaretli sekonder antikorlar kuyucuklara eklendi. Sonra substrat solusyonu eklenerek oluşan renklenme 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak değerlendirildi. Örneklerdeki PON-1 enzim konsantrasyonu, standartların oluşturduğu eğri kullanılarak ng/ml cinsinden hesaplandı.

### 3.4.DNA İzolasyonu:

Tam kandan DNA izolasyonu; Vivantis firmasının kiti (GF-1 Blood DNA Extraction Kit) kullanılarak yapılmıştır. Aşağıdaki deney protokolü uygulanmıştır.

- EDTA'lı tüpte bulunan kan oda sıcaklığına getirildikten sonra alt-üst edilerek homojenize edilmiştir.
- EDTA'lı tüpte bulunan tam kandan 200 µL propilen tüpe alınmıştır.
- Propilen tüpe alınan tam kanın üzerine 200 µL bağlayıcı solüsyon (Binding Buffer) ve 20 µL Proteinaz K konduktan sonra karıştırılmıştır.
- Isı bloğunda 10 dakika boyunca 65°C sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- 200 µL etanol üzerine eklendikten sonra karıştırılmıştır.
- Filtreli tüpe konulan karışım 1 dk 5,000 x g'de santrifüj edilmiştir.
- Dipte kalan sıvı uzaklaştırılmıştır.
- Filtreli tüpe 500 µL birinci yıkama solüsyonu (wash buffer 1) eklenmiştir.
- 1 dk 5,000 x g'de santrifüj edilmiştir.
- Dipte kalan fazla sıvı uzaklaştırılmıştır.
- 500 µL ikinci yıkama solüsyonu (Wash Buffer 2) filtreli tüpe eklenmiştir.
- 5,000 x g'de 1 dk santrifüj edilmiştir.

- Dipte kalan fazla sıvı uzaklaştırılmıştır.
- 500  $\mu$ L ikinci yıkama solüsyonu (Wash Buffer 2) tekrar filtreli tüpe eklenmiştir.
- 5,000 x g' de 3 dk santrifüj edilmiştir.
- Daha sonra filtreli tüp yeni bir propilen tüpe alınmıştır.
- 10 saniye 13,000 x g' de santrifüj edilmiştir.
- Daha sonra filtreli tüp tekrar yeni bir propilen tüpe alınmıştır.
- Önceden 65°C sıcaklıkta ısıtılmış 100  $\mu$ L elüsyon solüsyonu (Elution Buffer) filtreli tüpe konulmuştur.
- 5,000 x g' de 1 dk santrifüj edilir ve filtre uzaklaştırılmıştır.
- Kalıp DNA propilen tüpte bulunmaktadır.

Çalışmalarda elde edilen bu materyal DNA olarak kullanılmıştır.

### **3.5.PON-1 55 L/M ve 192 Q/R Polimorfizmlerinin Tespiti**

#### **3.5.1.PON-1 Enzimine Ait Primer ve Prob Tasarımı**

PON-1 55 L/M ve PON-1 192 Q/R polimorfizmleri için gerekli primer ve probe seti Pocsai ve ark. (145) yaptığı bir çalışma esas alınarak Metabion (Metabion international AG, Deutschland) firması tarafından sentez edildi. Primer ve probe dizileri aşağıdaki gibidir.

PON-1 55 L/M polimorfizmi için primer-probe dizilimi:

Forward Primer : 5'-CCTGCAATAATATGAAACAACCTG-3'

Reverse Primer : 5'-CTAGAACACAGAAAAGTGAAAGAAAAC-3'

Sensor Probe : 5'-CTCTGAAGACATGGAGATACTGCC- Fluo -3'

Anchor Probe :5'-LCRed640 ATGGACTGGCTTTCATTAGCTCTGTGAGT-3'

PON-1 192 Q/R polimorfizmi için primer-probe dizilimi:

Forward Primer : 5'-TATTGTTGCTGTGGGACCTGAG-3'

Reverse Primer : 5'-CCTTCTGCCACCACTCGAAC-3'

Sensor Probe : 5'-CCCCTACTTACAATCCTGGGAGAT-Fluo-3'

Anchor Probe : 5'- LCRed640-ATTTGGGTTTAGCGTGGTCGTATGTTG-3'

### **3.5.2. PON-1 Gen Polimorfizminin Real-Time PCR Hibridizasyon Problemi Yöntemi ile LightCycler 480 II Cihazında Saptanması**

PON-1 gen polimorfizmleri LightCycler 480 II (Roche Diagnostics Ltd, Rotkreuz, Switzerland) real-time PCR cihazında çalışıldı.

PON-1 55 L/M polimorfizminin tespiti için uygulanan PCR protokolü aşağıdaki gibidir.

**Tablo 5:** LightCycler’da PON-1 55 genotiplerinin melting point analizleri için kullanılan PCR şartları

<b>İçerik</b>	<b>Hacim</b>	<b>Başlangıç Konsantrasyonu</b>	<b>Son Konsantrasyon</b>
<b>H<sub>2</sub>O</b>	2 mL	-	-
<b>Forward Primer</b>	3.2 mL	5 pmol/mL	0.8 mM
<b>Reverse Primer</b>	3.2 mL	5 pmol/mL	0.8 mM
<b>Prob1</b>	2.6 mL	1.5 pmol/mL	0.195 mM
<b>Prob2</b>	2.6 mL	1.5 pmol/mL	0.195 mM
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	0.4 mL	25 mM	0.5 mM
<b>FastStart Master Mix</b>	2 mL	10X	1X
<b>Kalıp DNA</b>	4 mL	40 ng/mL	10 ng/mL
<b>Toplam hacim</b>	20 mL	-	-

PON-1 192 Q/R polimorfizminin tespiti için uygulanan PCR protokolü aşağıdaki gibidir.

**Tablo 6:** LightCycler'da PON-1 192 genotiplerinin melting point analizleri için kullanılan PCR şartları

İçerik	Hacim	Başlangıç	Son
		Konsantrasyonu	Konsantrasyon
H <sub>2</sub> O	4 mL	-	-
Forward Primer	3.2 mL	5 pmol/mL	0.8 mM
Reverse Primer	3.2 mL	5 pmol/mL	0.8 mM
Prob1	2.6 mL	1.5 pmol/mL	0.195 mM
Prob2	2.6 mL	1.5 pmol/mL	0.195 mM
MgCl <sub>2</sub>	0.4 mL	25 mM	0.5 mM
FastStart Master Mix	2 mL	10X	1X
Kalıp DNA	2 mL	40 ng/mL	10 ng/mL
Toplam hacim	20 mL	-	-

## PON-1 Enzim Polimorfizmi İçin Uygulanan Real-Time PCR Protokolü

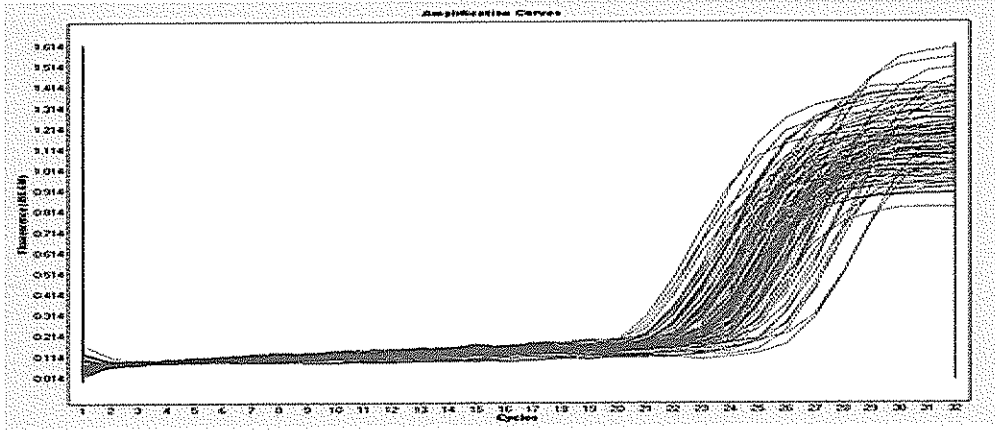
Hazırlanan PCR karışımı polimorfizm tespiti yapmak üzere LightCycler 480 II cihazına yerleştirildi ve Tablo 7’de gösterilen PCR prosedürü izlenecek şekilde PCR işlemi başlatıldı.

**Tablo 7:** PON-1 55 L/M ve 192 Q/R gen polimorfizminin tespitinde kullanılan PCR prosedürü

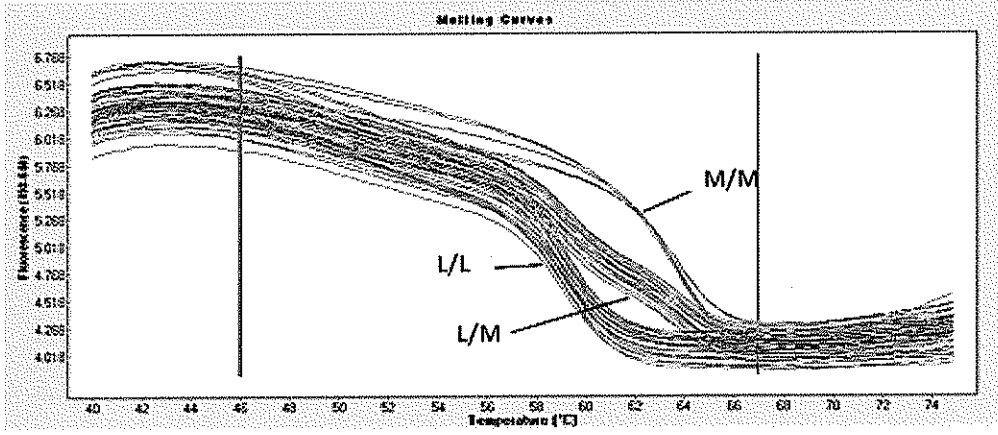
PCR Aşaması	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Denaturasyon	95°C	600 sn	1
	95°C	3 sn	
Amplifikasyon	57°C	10 sn (Tek Okuma)	32
	72°C	10 sn	
Erime Eğrisi Analizi	95°C	30 sn	
	42°C	120 sn	1
	75°C	0.1 °C/sn (Sürekli Okuma)	
Soğutma	40°C	30 sn	1

Çalışma sonunda cihazdan elde edilen eğriler aşağıdaki gibidir. Sonuçların değerlendirilmesi erime grafiklerinde gözlenen pik değerlerine göre yapıldı.

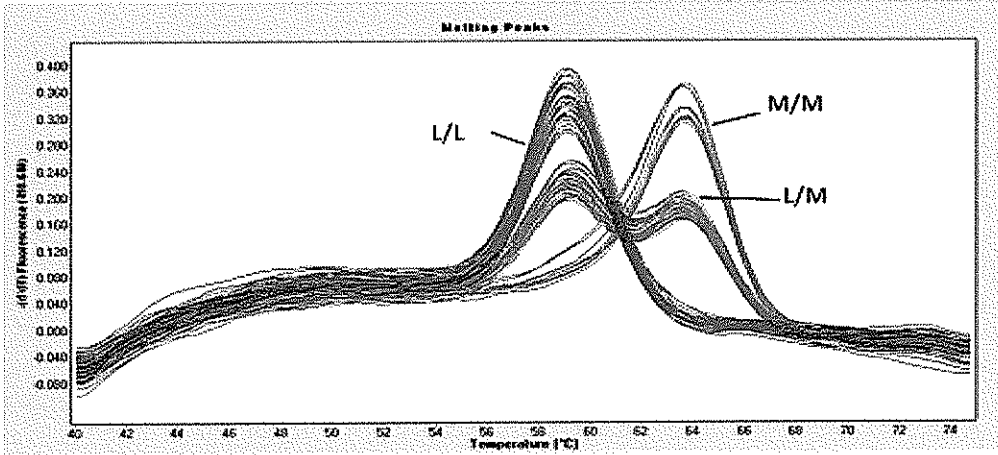




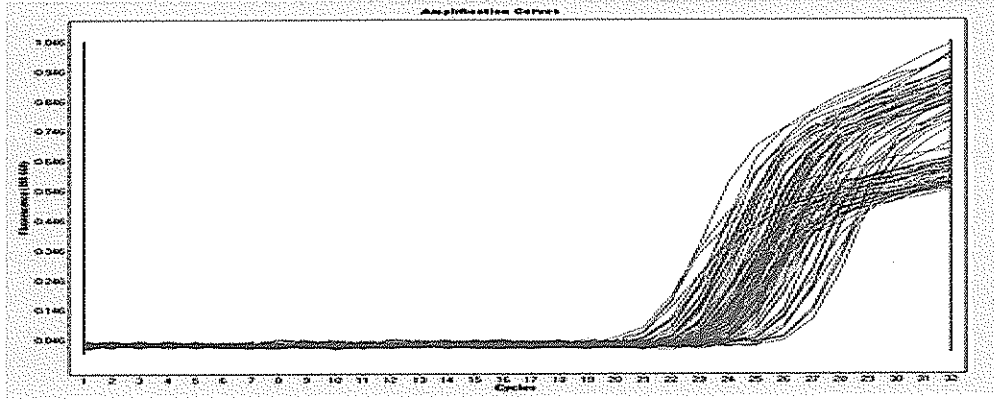
Şekil 6: PON-1 55 için çoğaltma eğrisi (Amplifikasyon Eğrisi)



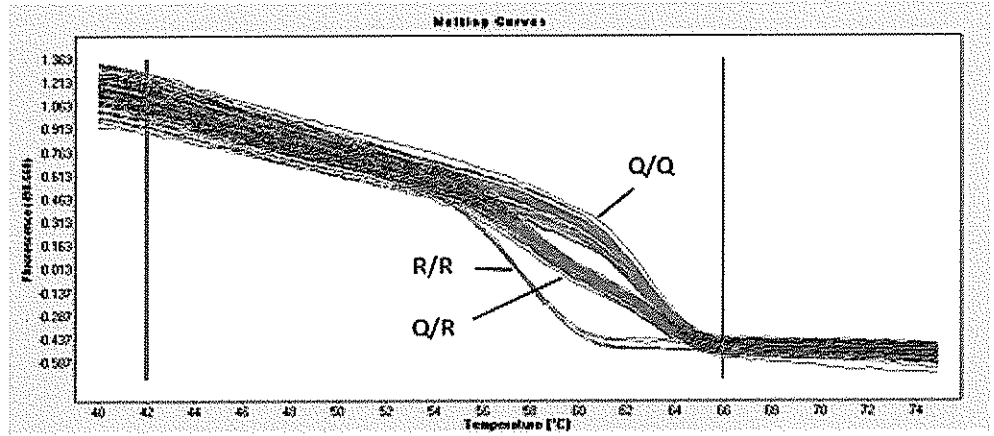
Şekil 7: PON-1 55 için erime eğrisi (Melting curve)



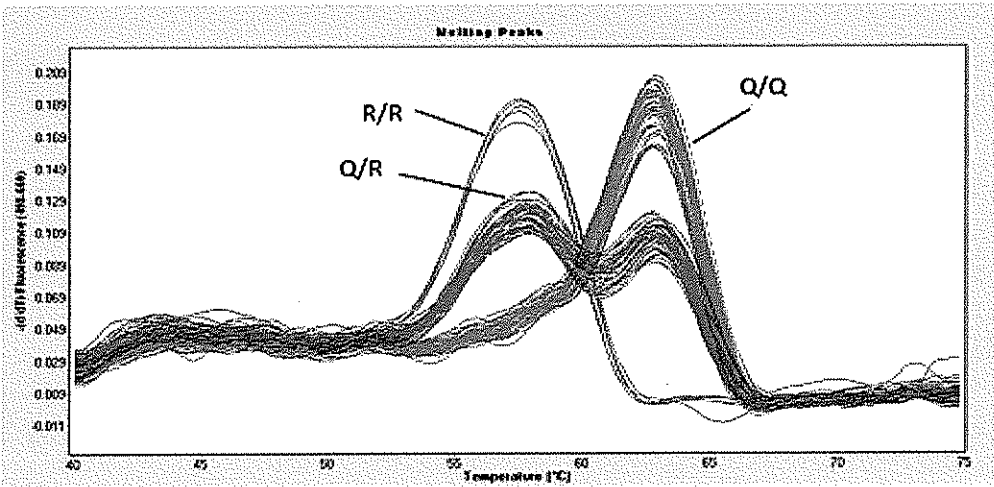
Şekil 8: PON-1 55 için erime pikleri (Melting peaks)



Şekil 9: PON-1 192 için çoğaltma eğrisi (Amplifikasyon Eğrisi)



Şekil 10: PON-1 192 için erime eğrisi (Melting curve)



Şekil 11: PON-1 192 için erime pikleri (Melting peaks)

### 3.5.3. Real-Time PCR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Çalışma sonunda oluşan erime eğrisinde, pik derecelerine göre hasta ve kontrol grubuna ait bireylerin genotiplendirilmeleri PON 1 55 polimorfizmi için; PON-1 55 L/L, PON-1 55 L/M ve PON-1 55 M/M olarak belirlendi. PON-1 192 polimorfizmi için ise; PON-1 192 Q/Q, PON-1 192 Q/R ve PON-1 192 R/R olarak belirlendi. Her iki polimorfizm de 640 nm dalga boyunda tespit edildi.

PON-1 55 polimorfizmi için genotip belirlenmesi şu şekilde yapıldı; (Bkz Şekil 8)

- Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 59 °C de tek bir pik şeklinde ise iki allel de lösin (L) aminoasidini kodlamaktadır (PON-1 55 L/L).
- Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 59 °C ve 65 °C de iki pik şeklinde ise allellerden biri lösin (L), diğeri metionin (M) aminoasidini kodlamaktadır (PON-1 55 L/M).
- Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 65 °C de tek bir pik şeklinde ise iki allel de metionin (M) aminoasidini kodlamaktadır (PON-1 55 M/M).

PON-1 192 polimorfizmi için genotip belirlenmesi şu şekilde yapıldı; (Bkz. Şekil 11)

- Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 63 °C de tek bir pik şeklinde ise iki allel de glutamin (Q) aminoasidini kodlamaktadır (PON-1 192 Q/Q).
- Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 63 °C ve 57 °C de iki pik şeklinde ise allellerden biri glutamin (Q), diğeri arginin (R) aminoasidini kodlamaktadır (PON-1 192 Q/R).
- Erime eğrisi analizi sonunda oluşan erime piki 57 °C de tek bir pik şeklinde ise iki allel de arginin (R) aminoasidini kodlamaktadır (PON-1 192 R/R).

### 3.6. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel hesaplamalar SPSS 15.0 programı ile yapıldı (SPSS Inc. Chicago, IL). Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edildi. Gruplar arasındaki verilerin karşılaştırılmasında parametrik değişkenler için Samples-T Test, nonparametrik değişkenler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Gruplar arası kategorik değişkenlerin ve genotip frekanslarının dağılımının karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. Değişik genotip tipleri arasındaki verilerin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ve Kruskal-Wallis H testi kullanıldı. FM hastalığı için genotip tiplerine göre göreceli risk oranları regresyon analiziyle hesaplandı. Ayrıca PON-1 plazma seviyeleri ile klinik skorlar arasındaki korelasyon analizlerinde, parametrik değişkenler için Pearson, nonparametrik değişkenler için ise Spearman korelasyon testleri kullanıldı.  $P < 0.05$  olan değerler istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya 150 kontrol ve 150 FM olmak üzere toplam 300 olgu katıldı. Kontrol ve hasta grubunun yaş dağılımları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu ( $40.7 \pm 12.2$ ;  $42.5 \pm 10.8$ ,  $p=0.158$ ). FM hastalarının plazma PON-1 protein düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ( $112.4 \pm 61.3$ ;  $71.5 \pm 42.6$ ,  $p<0.001$ ). Kontrol ve hastaların biyokimyasal ve klinik bulguları Tablo 8’de gösterilmiştir.

**Tablo 8:** Kontrol ve FM hastalarının demografik özellikleri

Değişken	Kontrol (N = 150)	FM (N = 150)	P
Yaş (yıl)	$40.7 \pm 12.2$	$42.5 \pm 10.8$	0.158
PON (ng/ml)	$71.5 \pm 42.6$	$112.4 \pm 61.3$	<0.001
VAS	-	$7.09 \pm 2.16$	-
TP	-	$14.1 \pm 3.34$	-
FES	-	$60.9 \pm 15.6$	-
BDÖ	-	$16.6 \pm 8.62$	-

Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verilmiştir. VAS, vizüel analog skala; TP (tender point), ağrılı nokta sayısı; FES, FM etki sorgulaması; BDÖ, beck depresyon ölçeği.

PON-1 genotip frekans dağılımları açısından kontrol ve FM hastaları arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (Bkz Tablo 9). PON-1 polimorfizmlerinin genotip tiplerine göre FM hastalığı risk oranları Tablo 10’da gösterilmiştir. FM hastalarının genotip tiplerine göre paraoksanaz enzim düzeyleri ve klinik bulgularının karşılaştırılmasında her iki polimorfizmde de genotip tipleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi (Bkz. Tablo 11).

Hem kontrol grubu hem de FM grubunda PON-1 55 MM genotipine sahip bireylerin plazma PON-1 protein düzeyleri referans genotipe (wild tip) göre yüksekti

fakat istatistiksel açıdan anlamlı değildi (kontrol, LL=65.5 ± 32.1; MM=81.3 ± 43.4; p=0.116, FM, LL=113.6 ± 68.2; MM=120.4 ± 58.7; p=0.508).

Yine kontrol ve FM grubunda PON-1 192 R/R genotipine sahip bireylerin plazma PON-1 protein düzeyleri referans genotipe (wild tip) göre düşüktü fakat istatistiksel açıdan anlamlı değildi (kontrol, QQ=72.3 ± 42.7; RR=57.1 ± 25.2; p=0.341, FM, QQ=112.4 ± 58.7; RR=86.2 ± 67.6; p=0.078). FM grubunda PON-1 192 R/R genotipine sahip bireylerin BDÖ değerleri referans genotipe (wild tip) göre yüksekti fakat istatistiksel açıdan anlamlı değildi (QQ=16.2 ± 8.0; RR=21.4 ± 14.6; p=0.292).

**Tablo 9:** Kontrol ve hastaların genotip frekans dağılımları

<b>Genotip</b>	<b>Kontrol</b> (N = 150)	<b>FM</b> (N = 150)
<b>PON-1 55 L/M</b>		
LL	59 (39 %)	50 (33 %)
LM	63 (42 %)	79 (53 %)
MM	28 (19 %)	21 (14 %)
<i>P = 0.170</i>		
<b>PON-1 192 Q/R</b>		
QQ	70 (47 %)	81 (54 %)
QR	65 (43 %)	59 (39 %)
RR	15 (10 %)	10 (7 %)
<i>P = 0.351</i>		

Veriler olgu sayısı olarak gösterilmiştir (%). PON-1=paraoksonaz 1; L=lösin; M=metiyonin; Q=glutamin; R=arjinin.

**Tablo 10:** Genotip frekanslarına göre FM için göreceli risk oranları

<b>Genotip</b>	<b>Kontrol</b> (N = 150)	<b>FM</b> (N = 150)	<b>OR<sup>a</sup></b> (95% CI)	<b>P</b>
<b>55 L/M</b>				
LL	59 (39 %)	50 (33 %)	1.00*	
LM	63 (42 %)	79 (53 %)	1.43 (0.86–2.39)	0.168
MM	28 (19 %)	21 (14 %)	0.90 (0.46–1.79)	0.768
LM + MM	91 (61 %)	100 (67 %)	1.27 (0.79–2.05)	0.327
<b>192 Q/R</b>				
QQ	70 (47 %)	81 (54 %)	1.00*	
QR	65 (43 %)	59 (39 %)	0.71 (0.44–1.16)	0.176
RR	15 (10 %)	10 (7 %)	0.59 (0.25–1.40)	0.234
QR + RR	80 (53 %)	69 (46 %)	0.67 (0.42–1.07)	0.095

Veriler olgu sayısı olarak gösterilmiştir (%). PON-1=paraoksonaz 1; L=lösin; M=metiyonin; Q=glutamin; R=arjinin; \*, Reference genotip (wild type); <sup>a</sup> Odds ratios (OR), göreceli oranlar; CI, güven aralığı. Veriler yaşa göre düzeltilmiştir.

**Tablo 11:** FM hastalarının genotip tiplerine göre paraoksonaz enzim düzeyleri ve klinik bulgularının karşılaştırılması

<b>Genotip</b>	<b>PON-1 (ng/ml)</b>	<b>VAS</b>	<b>TP</b>	<b>FES</b>	<b>BDÖ</b>
<b>55 L/M (N)</b>					
LL (50)	113.6 ± 68.2	7.1 ± 2.3	14.6 ± 3.3	61.2 ± 17.0	17.6 ± 10.1
LM (79)	109.6 ± 57.9	7.2 ± 2.2	13.5 ± 3.6	61.1 ± 14.4	16.1 ± 8.3
MM (21)	120.4 ± 58.7	6.7 ± 2.0	14.9 ± 2.3	59.9 ± 17.1	15.9 ± 5.8
<i>P</i>	<i>0.670</i>	<i>0.599</i>	<i>0.162</i>	<i>0.950</i>	<i>0.668</i>
<b>192 Q/R (N)</b>					
QQ (81)	112.4 ± 58.7	7.1 ± 2.1	13.8 ± 3.4	60.8 ± 14.6	16.2 ± 8.0
QR (59)	117.1 ± 63.8	7.3 ± 2.1	14.2 ± 3.2	60.9 ± 15.6	16.3 ± 8.0
RR (10)	86.2 ± 67.6	6.1 ± 2.8	14.9 ± 3.4	61.8 ± 23.9	21.4 ± 14.6
<i>P</i>	<i>0.188</i>	<i>0.417</i>	<i>0.632</i>	<i>0.982</i>	<i>0.186</i>

Veriler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. PON-1=paraoksonaz 1; L=lösin; M=metiyonin; Q=glutamin; R=arjinin; N, olgu sayısı.



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

FM sendromu toplumda sık gözlenen, kronik ağrı, yorgunluk, uyku bozuklukları ve sabah tutukluğu gibi yakınmalarla beraber hastaların belirli vücut noktalarında hassasiyetle seyreden bir rahatsızlıktır (18).

Çalışmamıza, ACR 1990 kriterlerine göre FM sendromu tanısı konmuş 150 kişilik hasta ve 150 kişilik kontrol grubu olmak üzere toplam olarak 300 kişi dahil edilmiştir. Çalışmamızda hasta grubunun yaş ortalaması  $42.5 \pm 10.8$  yıl ve kontrol grubunun yaş ortalaması  $40.7 \pm 12.2$  yıl olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasında yaş ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0.158$ ). FM sendromunun 34-57 yaşlar arasında sık olarak gözleendiği ve hasta popülasyonlarına göre farklılık gösterdiği bildirilmektedir (21). Bizim hasta grubumuzun yaş ortalaması da literatürle uyumluluk göstermektedir. FM sendromu kadınlarda erkeklere göre 9 ile 20 kat daha fazla sıklıkta görülmektedir (107). Çalışmamızda; cinsiyete bağlı olası tanımlanmamış etyolojik faktörlerin dışlanmasını ve grupların kendi içinde homojen bir yapı oluşturmasını amaçladığımız için hasta ve kontrol grubunun tamamı kadın olgulardan seçilmiştir (157).

Son yıllarda FM patofizyolojisinde önemli gelişmeler olmasına rağmen, FM etyolojisi ve patojenik mekanizmaları hala tam olarak bilinmemektedir. FM sendromu, araştırmacılar ve klinisyenler için zorlu bir klinik tablo olmaya devam etmektedir (2-4). FM patogenezi üzerine olan araştırmalar temel olarak altı alanda yoğunlaşmaktadır. Bunlar; kaslarda mikrodolaşım sal değişiklikler, serotonin metabolizasında gözlenen değişiklikler, nöroendokrinolojik değişiklikler, otonom sinir sisteminde gözlenen değişiklikler, psikolojik ve psikiyatrik anormalliklerdir (118).

Bozulmuş mikrodolaşıma bağlı lokal hipoksi teorisinin FM etyopatogeneziyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu teoriye göre FM tanısı alan hastaların hassas noktalarında vazokonstriksiyon meydana gelmekte ve oluşan bu vazokonstriksiyon sonucu lokal hipoksi oluşmaktadır (7). Birçok inflamatuvar hastalıkta, hipoksi sonucu

reaktif oksijen türlerinin üretiminde artış olduğu, antioksidan savunma mekanizmalarının ise oluşan bu zararlı maddelerin seviyelerini düşürmekte görev aldığı bildirilmektedir (119-121). FM etyopatogenezinde serbest radikallere bağlı oksidatif hasarın rolü daha önceden de üzerinde durulmuş ve birçok defa araştırılmış bir konudur. Bir çalışmada kaslar üzerindeki hassas noktalarda lokal hipoksi olduğu tespit edilmiştir (5). Lund ve arkadaşları ise hassas noktaların altındaki subkutan dokuda ve kaslarda oksijenizasyonu araştırmışlar ve hassas noktalarda oksijen basıncının normal olmadığını tespit etmişlerdir (6). Jeschonnek ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma sonucu; FM hastalarında hassas noktalar üzerinde vazokonstriksiyon olduğu ve bunun da 'hassas noktalar üzerinde oluşan lokal hipoksi' hipotezi ile ilişkili olabileceğini belirtmektedirler (7). Bengston ve arkadaşları ise FM hastalarının hassas noktalardan aldıkları kas biyopsi örneklerinde adenozin difosfat ve kreatin fosfat seviyelerinde azalma olduğu; adenozin monofosfat ve kreatin seviyelerinde ise artış olduğu bildirilmektedir. Yaptıkları çalışma sonucunda FM'de oluşan ağrı yakınmasının kas kaynaklı olabileceği sonucuna varmışlardır (8).

Literatürde FM sendromunda vücudun oksidan-antioksidan dengesini inceleyen araştırmalar mevcuttur. Bağış ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada; 85 FM sendromu tanısı alan kadın hasta ve 80 sağlıklı kadından oluşan gruplarda, SOD enzimi ve MDA seviyeleri araştırılmıştır. Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA seviyesi hasta grubunda anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. SOD seviyesi ise hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük tespit edilmiştir. Yaş, sigara içimi, vücut kitle indeksi, hastalık süreleri ile MDA ve SOD seviyeleri arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir. Yapılan bu çalışmada; ağrı seviyesi ve hassas nokta sayıları ile SOD ve MDA düzeyleri arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir. Sonuç olarak; artmış serbest radikallerin bu hastalığın gelişiminde rol oynayabileceğini ve bulguların 'FM sendromu oksidatif bir bozukluktur' hipotezini destekleyebileceğini belirtmişlerdir (9).

Altındağ ve Çelik, 20 FM hastası ve 20 sağlıklı kontrol üzerinde yaptıkları çalışmada; hasta grubunda plazma TAS' ın kontrol grubuna göre azalmış olduğu

tespit edilmiştir. Lipid peroksit seviyesinin ise hasta grubunda arttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca VAS ile TAS arasında negatif korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak FM hastalarının oksidatif strese maruz kaldığını, artmış oksidatif stresin hastalığın etyopatogenezinde rol oynayabileceğini ifade etmişlerdir (10). Akkuş ve arkadaşları ise 30 FM tanılı kadın hasta ve 30 kontrolden oluşan bir çalışmada plazmada Vitamin A,E, C, lipid peroksit ve nitrik oksit seviyelerini araştırmışlardır. Vitamin A ve E seviyeleri hasta grubunda düşük çıkmıştır. Lipid peroksit seviyesi ise kontrol grubuna göre hasta grubunda yüksek olarak tespit edilmiştir. Vitamin C, beta- karoten ve nitrik oksit seviyelerinde ise anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Akkuş ve arkadaşları bu sonuçların FM hastalığında öne sürülen lokal iskemiye bağlı oksidatif stres oluşumu hipotezini destekler nitelikte olduğunu belirtmişlerdir (11). 33 FM hastası, 35 gerilim tipi baş ağrısı (GTB) hastası, 31 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunun dahil olduğu bir başka çalışmada, TAS, total oksidan seviyesi (TOS), plazma nitrit seviyeleri ve oksidatif stres indeksi araştırılmıştır. TAS ve nitrit seviyeleri FM ve GTB grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir. Oksidatif stres indeksi ise FM ve GTB grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir. TOS seviyesi ise FM grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksekken, GTB grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Sonuç olarak, FM ve GTB'nın patofizyolojik mekanizmalarında oksidatif stresin rol oynayabileceğini belirtmişlerdir (123). Eisenger ve arkadaşları FM' li kadın hastalarda yaptıkları çalışmada lipid peroksit seviyesinin bir belirteci olan MDA seviyesinde anlamlı bir farklılık tespit edememişlerken, protein oksidasyonunu hasta grubunda artmış olarak bulmuşlardır (12).

Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarındaki en önemli mekanizmalardan biri lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu bir dizi reaksiyon içermekte ve son ürün olarak MDA açığa çıkmaktadır. MDA, oksidatif stresin invivo test edilebilen göstergesidir. (158). Yukarıdaki çalışmalarda MDA seviyesi veya lipid peroksit seviyesi bir araştırma haricinde (Eisenger ve ark.) diğerlerinde hasta grubunda anlamlı artış göstermiştir. Genel olarak yapılan çalışmalar FM patogenezinde oksidatif stresin var olabileceğini göstermektedir.

PON-1; esteraz ve laktonaz aktivitesine sahip kalsiyum bağımlı bir enzimdir. Hepatik hücrelerden salınmakta ve dolaşımında HDL partikülleri ile birlikte bulunmaktadır (159). PON-1 enziminin lipoproteinlerin ve diğer yapıları oksidatif hasara karşı koruyucu bir antioksidan enzim olduğu ve lipid peroksit oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (124). Özellikle son yıllarda, PON-1 enzim seviyeleri ve sık görülen polimorfizmleri ile oksidatif stresle ilişkili birçok klinik hastalık arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar mevcuttur (134, 160, 161).

Yaptığımız çalışmada, antioksidan bir enzim olan PON-1 enziminin plazma seviyeleri ve sık görülen genetik polimorfizmlerinin FM sendromunun etyopatogeneziyle ve klinik bulgularıyla olan ilişkisini araştırdık. Literatürde, antioksidan bir enzim olan PON-1 enzim seviyesi ile FM hastalığının ilişkisini inceleyen çok sınırlı sayıda çalışma vardır. Altındağ ve arkadaşları 42 FM hastası ve 53 sağlıklı kontrol üzerinde yaptıkları çalışmada; serum paraoksanaz, arilesteraz aktiviteleri ve TAS hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuşken, lipid peroksit seviyesi ise anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir (162). Bizim çalışmamızda paraoksanaz enzim ekspresyonunun bir göstergesi olarak plazma PON-1 enzim düzeyleri ölçülmüş ve hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $P<0.001$ ). Ayrıca PON-1 genotiplerinin FM riski açısından göreceli oranları istatistiksel açıdan anlamlı değildi (Bkz. Tablo 10). Bu da bize, FM hastalarındaki yüksek PON-1 plazma protein düzeylerinin genotipik farklılıktan ziyade FM'deki yüksek oksidatif stres ve lipid peroksit düzeylerine karşı oluşan reaktif bir artıştan kaynaklandığını düşündürmektedir. Bu çalışmada PON-1 55 L/M ve 192 Q/R polimorfizmlerinin FM etyolojisiyle ve riskiyle bir ilişkisi saptanmamıştır.

Bunun yanında çalışmamızda, hem kontrol hem de FM grubunda PON-1 55 M/M genotipine sahip bireylerin plazma PON-1 protein düzeyleri referans genotipe (wild tip) göre yüksekti fakat istatistiksel açıdan anlamlı değildi (kontrol,  $LL=65.5 \pm 32.1$ ;  $MM=81.3 \pm 43.4$ ;  $p=0.116$ , FM,  $LL=113.6 \pm 68.2$ ;  $MM=120.4 \pm 58.7$ ;  $p=0.508$ ). Yine kontrol ve FM grubunda PON-1 192 R/R genotipine sahip bireylerin plazma PON-1 protein düzeyleri referans genotipe (wild tip) göre düşüktü fakat

istatistiksel açıdan anlamlı değildi (kontrol, QQ=72.3 ± 42.7; RR=57.1 ± 25.2; p=0.341, FM, QQ=112.4 ± 58.7; RR=86.2 ± 67.6; p=0.078). Bu bulgular daha önceki literatür bilgisiyle uyumludur (117). Ayrıca, FM grubunda PON-1 192 R/R genotipine sahip bireylerin BDÖ değerleri referans genotipe (wild tip) göre yüksekti fakat istatistiksel açıdan anlamlı değildi (QQ=16.2 ± 8.0; RR=21.4 ± 14.6; p=0.292).

Şimdiye kadar FM hastalığının PON-1 polimorfizmi ile ilişkisini araştıran bir çalışmaya rastlamadık. Fakat diğer romatolojik hastalıklarla PON-1 gen polimorfizmini inceleyen sınırlı sayıda çalışma vardır. Hashemi ve arkadaşlarının 2010 yılında 88 romatoid artrit hastası ve 78 sağlıklı kontrolden oluşan gruplarda yaptığı çalışmada PON-1 55 L/M polimorfizmi araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada 55 M/M genotip frekansının hasta grubunda (%17), kontrol grubuna (%5.2) göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca 55 L/L genotip frekansı hasta grubunda %37,5 ve kontrol grubunda %55,8 olarak tespit edildiği, L/M genotip frekansı hasta grubunda % 45,5, kontrol grubunda %39 olarak tespit edildiği bildirilmektedir. Sonuç olarak 55 M/M genotipinin romatoid artrit hastalığı için bir risk faktörü olabileceği bildirilmektedir (163). Romatoid artritli hastalarda yapılmış bu çalışmanın aksine, çalışmamız sonucunda PON-1 55 L/M geninde FM hastaları ve kontrol grupları arasında genotip frekansları açısından anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Bkz. Tablo 9). Hashemi ve arkadaşlarının yaptıkları bir diğer çalışmada PON-1 192 Q/R polimorfizmi ile romatoid artrit arasında bir ilişki olmadığı belirtilmiştir (164).

Şendur ve arkadaşları 32 FM hastası ve 32 kontrolden oluşan gruplarda, serum eser elementlerinin FM klinik bulguları ve semptomları üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Yapılan bu çalışmada hasta grubunda FES ölçeğinin ortalama değeri 53,3 ve VAS ölçeğinin ortalama değeri 6,6 olarak tespit edildiği bildirilmektedir (165). Sakarya ve arkadaşları 2011 yılında 40 FM hastasından ve 40 kontrolden oluşan gruplarda serum antioksidan vitaminlerinin ve magnezyum seviyesinin hastalığın patogenezi ve klinik bulgularla olan ilişkisini araştırmışlardır. Yapılan bu çalışmada klinik ölçeklerin ortalama değerleri sırasıyla; Hassas Nokta Sayısı: 13,95, VAS: 8, FES: 61,32 ve BDÖ: 11,23 olarak tespit edildiği

bildirilmektedir. Sonuç olarak serum antioksidan vitamin ve magnezyum seviyelerinin, klinik ölçek değerleriyle herhangi bir ilişkisinin olmadığı belirtilmektedir (166). Çalışmamızda klinik ölçeklerin ortalama değerleri sırasıyla; Hassas Nokta sayısı: 14,1, VAS: 7,09, FES: 60,9 ve BDÖ: 16,6 olarak tespit edilmiştir. (Bkz. Tablo 8) Çalışmamızda hasta grubunda kullandığımız ölçeklerin ortalama değerleri Sakarya ve Arkadaşlarının yaptığı çalışma ile benzerlik göstermektedir. Sonuç olarak; çalışmamızda PON-1 genotipleri ile FM hastalarındaki klinik bulgular arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Bkz. Tablo 11). Ayrıca FM hastalarında, PON-1 plazma düzeyleri ile klinik skorlar arasında da anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

Bizim yaptığımız çalışmada PON-1 192 Q/R ve 55 L/M polimorfizmleri araştırılmıştır. PON-1 proteinini kodlayan gen bölgesinde çok sayıda polimorfizm tanımlanmıştır. Diğer polimorfizm bölgelerinin de araştırılmasının faydalı olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca PON-1 enzimi antioksidan bir enzimdir fakat bu enzimin yanında antioksidan sistemde rol oynayan birçok enzim bulunmaktadır. FM ile oksidatif stres arasındaki ilişkinin daha net olarak tanımlanabilmesi için diğer antioksidan enzimlerin ve bu enzimlere ait polimorfizmlerin de araştırıldığı çalışmaların yapılmasıyla daha sağlıklı sonuçlar elde edilebileceğini düşünmekteyiz. Hasta ve kontrol grubunun sadece kadınlardan oluşması olası etyolojik faktörlerin dışlanması açısından faydalı olmuştur ancak, erkek FM hastalarının da değerlendirilmesinin fayda sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, yaptığımız bu çalışmada; PON-1 55 L/M ve 192 Q/R polimorfizmleri ile FM hastalığı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Plazma PON-1 enzim düzeyleri FM grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuş, bunun da hastalıktaki artmış oksidatif strese karşı reaktif bir artıştan kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu çalışmanın daha geniş ve farklı etnik populasyonlarda tekrarlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

1. Gür A. Fibromiyalji'de Etiyopatogenez. *Türk Fiz Tıp Rehab Derg.* 2008; 54(1): 4-11.
2. Neeck G. Pathogenic mechanisms of fibromyalgia. *Aging Res Rev.* 2002; 1: 243–255
3. Mease P. Fibromyalgia syndrome: review of clinical presentation, pathogenesis, outcome measures and treatment. *J Rheumatol Suppl.* 2005; 75: 6-21.
4. Ozgocmen S. New strategies in evaluation of therapeutic efficacy in fibromyalgia syndrome. *Curr Pharm Des.* 2006;12: 67-71.
5. Fassbender HG, Wegner K. Morphology and pathogenesis of soft tissue rheumatism [abstract] *Z Rheumaforsch.* 1973; 32: 355-74.
6. Lund N, Bengtsson A, Thorborg P. Muscle tissue oxygen pressure in primary fibromyalgia. *Scand J Rheumatol.* 1986; 15: 165– 173.
7. Jeschonneck M, Grohmann G, Hein G, Sprott H. Abnormal microcirculation and temperature in skin above tender points in patients with fibromyalgia. *Rheumatology.* 2000; 39: 917–921.
8. Bengtsson A, Henriksson KG, Larsson J. Reduced high energy phosphate levels in the painful muscles of patients with primary fibromyalgia. *Arthritis Rheum.* 1986; 15: 1–6.
9. Bagis S, Tamer L, Sahin G, Bilgin R, Guler H, Ercan B, Erdogan C. Free radicals and antioxidants in primary fibromyalgia an oxidative stress disorder? *Rheumatol Int.* 2005; 25: 188–190.
10. Altindag O, Celik H. Total antioxidant capacity and the severity of the pain in patients with fibromyalgia. *Redox Rep.* 2006;11(3):131-5
11. Akkus S, Nazıroğlu M, Eriş S, Yalman K, Yılmaz N, Yener M. Levels of lipid peroxidation, nitric oxide, and antioxidant vitamins in plasma of patients with fibromyalgia. *Cell Biochem Funct.* 2009; 27: 181–185.
12. Eisinger J, Zakarian H, Pouly E, Plantamura A, Ayavou T. Protein peroxidation, magnesium deficiency and fibromyalgia. *Magnes Res.* 1996; 4: 313-6.

13. Hong-Liang L, De-Pei L, Chihj-Chuan L. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress and diseases. *J Mol Med.* 2003; 81: 766-79.
14. Goldenberg DL. Fibromyalgia and related syndromes. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weismann MH (eds). *Rheumatology.* London: Mosby. 2003; p:701-12.
15. Yunus MB, Masi A.T: Fibromyalgia, Restless Legs Syndrome, Periodic Limb, Movement Disorder and Psychogenic Pain; In *arthritis and allied Condition*, 12th edition, Lea & Febiger edited by D.J. Mc Carty and WJ. Kopman, 1992;1383–1405.108-112a
16. Mease P, Buskila D, Sarzi-Puttini P. The fibromyalgia conundrum. *Clin Exp Rheumatol.* 2009; 27: 2-4.
17. Goldenberg DL. Fibromyalgia and related syndromes. In; Klippel JH, Dieppe PA (eds) *Rheumatology.* Mosby London.1998; 15.4.1.
18. Wolfe F, Smythe H, Yunus M, Bennet RM. The American College of Rheumatology 1990 Criteria for the classification of fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committe. *Arthritis Rheum.* 1990; 33(2) 160-72.
19. Wolfe F, Ross K, Anderson J, et al. The prevalence and characteristics of fibromyalgia in the general population. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 19-28.
20. Topbaş M, Çakırbay H, Güleç H: The prevalence of fibromyalgia in women aged 20-64 in Turkey. *Scand J Rheumatol.* 2005; 34: 140-144.
21. Akkuş S. Fibromyalji. In: Göksoy T, ed. *İstanbul. Romatizmal Hastalıkların Tanı ve Tedavisi.* Yüce reklam/yayım/dağıtım A.Ş. 2002; s:777-89.
22. Mäkelä M, Heliövaara M. Prevalence of primary fibromyalgia in the Finnish population. *BMJ* 1991; 303:216-219.
23. Farooqi A, Gibson T. Prevalence of the rheumatic disorders in the adult population of north Pakistan. *Br J Rheumatol.* 1998; 37: 491-495.
24. Buskila D, Neumann L, Hersman E, Gedalia A, Press J, Sukenik S. Fibromyalgia syndrome in children -outcome study. *J Rheumatol.* 1995; 22: 525–28.
25. Buskila D, Neumann L, Hazanov I, Carmi R. Familial aggregation in the fibromyalgia syndrome. *Semin Arthritis Rheum* 1996; 26: 605–11



26. Pellegrino MJ, Waylonis GW, Sommer A. Familial occurrence of primary fibromyalgia. *Arch Phys Med Rehabil* 1989; 70: 61–3
27. Burkham J, Edward DH. Fibromiyalji: bir kronik ağrı sendromu. In: Harris ED, Budd RC, Genovese MC, Firestein GS, Sargent JS, Sledge CB (eds). *Ankara. Kelley Romatoloji. Güneş Kitabevi. 2006;s:522-36.*
28. Svebak S, Anjia R, Kårstad SI. Task-induced electromyographic activation in fibromyalgia subjects and controls. *Scand J Rheumatol.* 1993; 22 :124-30.
29. Elert JE, Rantapää-Dahlqvist SB, Henriksson-Larsén K, Lorentzon R, Gerdlé BU. Muscle performance, electromyography and fibre type composition in fibromyalgia and work-related myalgia. *Scand J Rheumatol.* 1992; 21:28-34.
30. Gerdle B, Grönlund C, Karlsson SJ, Holtermann A, Roeleveld K. Altered neuromuscular control mechanisms of the trapezius muscle in fibromyalgia. *BMC Musculoskelet Disord* 2010; 11: 42.
31. Le Goff P. Is fibromyalgia a muscle disorder? *Joint Bone Spine* 2006; 73: 239-242.
32. Akkoç Y. Fibromiyalji Sendromunda etyopatogenez, nöroendokrin ve otonomik sinir sistemi. IV. RASD Geleneksel Sempozyumu Özet Kitabı, Elazığ, 2001.
33. Ulas UH, Unlu E, Hamamcioglu K, Odabasi Z, Cakci A, Vural O. Dysautonomia in fibromyalgia syndrome: sympathetic skin responses and RR interval analysis. *Rheumatol Int.* 2006; 26: 383-387.
34. Harding SM. Sleep in fibromyalgia patients: subjective and objective findings. *Am J Med Sci* 1998; 315: 367-76.
35. Jennum P, Drewes AM, Andreasen A, Nielsen KD. Sleep and other symptoms in primary fibromyalgia and in healthy controls. *J Rheumatol* 1993; 20: 156-9.
36. Moldofsky H, Scarisbrick P, England R, Smythe H. Musculoskeletal symptoms and non-REM sleep disturbance in patients with "fibrositis syndrome" and healthy subjects. *Psychosom Med.* 1975; 37(4): 341-51.
37. Moldofsky H. Sleep and pain. *Sleep Medicine.* 2001; 5: 387-398.

38. Bradley LA, Alarcon GS, Aaron LA, Martin MY, Alberts KR, Sotolongo A. Abnormal pain perception in patients with fibromyalgia: comment on the article by Bendtson et al (letter). *Arthritis Rheum.* 1997; 40: 2275–77.
39. Gür A. Fibromiyaljide Etyopatogenez. *Romatizma.* 2006; 21(1); 335-51.
40. Staud R. Are tender point injections beneficial? The role of tonic nociception in fibromyalgia. *Curr Pharm Des.* 2006; 12; 23-7.
41. McCain GA, Tilbe KS. Diurnal hormone variation in fibromyalgia syndrome: a comparison with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1989; 19 :154-157.
42. Crofford LJ, Pillemer SR, Kalogeras KT, et al. Hypothalamic Pituitary adrenal axis perturbations in patients with fibromyalgia. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 1583-92.
43. Gur A, Cevik R, Sarac AJ, Colpan L, Em S. Hypothalamic-pituitary-gonadal axis and cortisol in young women with primary fibromyalgia: the potential roles of depression, fatigue, and sleep disturbance in the occurrence of hypocortisolism. *Ann Rheum Dis.* 2004; 63: 1504-6.
44. Gur A, Cevik R, Nas K, Colpan L, Sarac S. Cortisol and hypothalamic-pituitarygonadal axis hormones in follicular-phase women with fibromyalgia and chronic fatigue syndrome and effect of depressive symptoms on these hormones. *Arthritis Res Ther.* 2004; 6: 232-8.
45. Dadabhoy D, Crofford LJ, Spaeth M, Russell IJ, Clauw DJ. Biology and therapy of fibromyalgia. Evidence-based biomarkers for fibromyalgia syndrome. *Arthritis Res Ther.* 2008; 10: 211.
46. Bennett RM, Clark SR, Campbell SM, Burckhardt CS. Low levels of somatomedin C in patients with the fibromyalgia syndrome. A possible link between sleep and muscle pain. *Arthritis Rheum.* 1992; 35: 1113-6.
47. Okifuji A, Turk DC: Sex hormones and pain in regularly menstruating women with fibromyalgia syndrome. *J Pain.* 2006; 7: 851-859.
48. Macfarlane TV, Blinkhorn A, Worthington HV, Davies RM, Macfarlane GJ: Sex hormonal factors and chronic widespread pain: a population study among women. *Rheumatology* 2002, 41: 454- 457.

49. Vaeroy H, Helle R, Forre O et al. Elevated CSF levels of substance P and high incidence of Raynaud phenomenon in patients with fibromyalgia: new features for diagnosis. *Pain*. 1988; 32: 21-26.
50. Russell IJ, Michalek JE, Vipraio GA, et al. Platelet 3H-imipramine uptake receptor density and serum serotonin levels in patients with fibromyalgia/fibrositis syndrome. *J Rheumatol* 1992; 19: 104-109.
51. Yunus MB, Dailey JW, Aldag JC, et al. Plasma tryptophan and other amino acids in primary fibromyalgia: A controlled study. *J Rheumatol*. 1992; 19: 90-94.
52. Russell IJ, Vaeroy H, Javors M, et al. Cerebrospinal fluid biogenic amine metabolites in fibromyalgia/fibrositis syndrome and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1992; 35: 550-556.
53. Bennet RM. Emerging concepts in the neurobiology of chronic pain: Evidence of abnormal sensory processing in fibromyalgia. *Mayo Clin Proc*. 1999; 74: 385-398.
54. Mountz JM, Bradley LA, Alarcón GS. Abnormal functional activity of the central nervous system in fibromyalgia syndrome. *Am J Med Sci* 1998; 315: 385-96.
55. Mountz JM, Bradley LA, Modell JG, Alexander RW, Triana-Alexander M, Aaron LA, et al. Fibromyalgia in women. Abnormalities of regional cerebral blood flow in the thalamus and the caudate nucleus are associated with low pain threshold levels. *Arthritis Rheum*. 1995; 38: 926-38.
56. Bradley LA, Sotolongo A, Alberts KR, Alarcón GS, Mountz JM, Liu HG, et al. Abnormal cerebral blood flow in the caudate nucleus among fibromyalgia patients and non-patients is associated with insidious symptom onset. *J Musculoskel Pain*. 1999; 7: 285-92.
57. San-Pedro EC, Mountz JM, Mountz JD, Liu HG, Katholi CR, Deutsch G. Familial painful restless legs syndrome correlates with pain dependent covariation of blood flow to the caudate, thalamus, and anterior cingulate gyrus. *J Rheumatol*. 1998; 25: 2270-5.

58. Iadarola MJ, Max MB, Berman KF, Byas-Smith MG, Coghill RC, Gracely RH, et al. Unilateral decrease in activity observed with positron emission tomography in patients with chronic neuropathic pain. *Pain*. 1995; 63 :55-64.
59. Kwiatek R, Barnden L, Tedman R, Jarrett R, Chew J, Rowe C, et al. Regional cerebral blood flow in fibromyalgia. *Arthritis Rheum* 2000 ;43: 2823-33.
60. Amel Kashipaz MR, Swinden D, Todd I, Powell RJ. Normal production of inflammatory cytokines in chronic fatigue and fibromyalgia syndromes determined by intracellular cytokine staining in short-term cultured blood mononuclear cells. *Clin Exp Immunol* 2003; 132: 360-365.
61. Wallace DJ. Is there a role for cytokine based therapies in fibromyalgia? *Curr Pharm Des* 2006; 12: 17-22.
62. Buchwald D, Goldenberg DL, Sullivan JL, Komaroff AL. The chronic, active Epstein Barr virus infection syndrome and primary fibromyalgia. *Arthritis Rheum*. 1987; 30: 1132-6.
63. Hayley S, Merali Z, Anisman H, Stres and cytokine elicited neuroendocrine and neurotransmitter sensitization: implications for depressive illness. *Stres*. 2003; 6: 19-32.
64. Gur A, Karakoc M, Nas K, et al Cytokines and depression in cases with fibromyalgia. *J Rheumatol*. 2002; 29: 358-61.
65. Yunus MB, Hussey FX, Aldag JL. Antinuclear antibodies and connective tissue disease features in fibromyalgia syndrome: a controlled study. *J Rheumatol*. 1993; 20: 1557-60.
66. Bridges AJ. Fibromyalgia, antinuclear antibodies and clinical features of connective tissue disease. *Clin Exp Rheumatol* 1993; 11: 696-7.
67. Goldenberg DL. Do infections trigger fibromyalgia? *Arthritis Rheum*. 1993; 36: 1489-92.
68. Coderre TJ, Katz J, Vaccarino AL, Melzack R: Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical experimental evidence. *Pain*. 1993; 52: 259-285.
69. Imboden J, Hellmann DB, Stone JH. *Current Romatoloji Tanı ve Tedavi*. Arasil T (Çeviren ).1. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2006.

70. Disorder and Psychogenic Pain; In arthritis and allied Condition, 12th edition, Lea & Febiger edited by D.J. Mc Carty and WJ. Kopman, 1992; 1383–1405.108-112a
71. Friedberg F, Sohl S, Schmeizer B: Publication trends in chronic fatigue syndrome: Comparisons with fibromyalgia and fatigue: 1995–2004. Journal of Psychosomatic Research. 2007; 63: 143–146
72. Yunus MB, Masi AT, Calabro JJ: Primary Fibromyalgia: Clinical Study Of 50 Patients With Matched Normal Controls. Semin Arthritis Rheum. 1981; 11: 151–171.
73. Goldenberg DL. Fibromyalgia syndrome. An emerging but controversial condition. JAMA. 1987; 257: 2782-7.
74. Yunus MB, Masi AT, Aldağ JC. A controlled study of primary fibromyalgia syndrome: clinical features and association with other functional syndromes. J Rheumatol. 1989; 19: 62–71.
75. Cantürk F. Fibromyalji ve diğer eklem dışı romatizmal hastalıklar. In: Beyazova M, Gökçe-Kutsal Y (eds.). Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon. Güneş Kitabevi, Ankara, 2000; 1654-1681
76. Yunus MB, Inanici F, Aldag JC. Fibromyalgia in men: Comparison of clinical features primary fibromyalgia syndrome: A controlled and blinded study. J Rheumatol. 1989; 16: 97-101.
77. Hawley DJ, Wofe F. Effect of light and season on pain and depression in subjects with rheumatic disorders. Pain.1994; 59; 227-234.
78. İnancı F, Yunus MB, Edward S, Rachlin MD. Fibromyalgia Syndrome: Clinical Features, Diagnosis, and Biopathophysiologic Mechanisms. In: Rachlin ES, Rachlin IS. Eds. Myofascial Pain and Fibromyalgia Trigger Point Management. 2nd.Ed. NewYork: Mosby Co. 2002; 3-32.
79. Wallece DJ. Genitourinary manifestations of fibrositis: An increased association with female urethral syndrome. J Rheumatol. 1990;17(2): 238–9.
80. Gürer G, Şendur ÖF. Fibromiyaljili hastalarımızın klinik özellikleri ile bulgular arasındaki korelasyonlar. Romatizma. 2006; 21: 41-4.
81. Yener M. Fibromiyaljili hastalarda serum 25-hidroksi D vitamini ve parathormon düzeyleri. Uzmanlık Tezi. 2005; 20-21.

82. Marcus DA. A Primary Care Guide to Practical Management Dawn A. Marcus, MD Pain Institute, University of Pittsburgh Pittsburgh, Chronic Pain. PA Human Pres. 2005; 15-30.
83. Woolf AD. The bone and joint decade 2000-2010. *Ann Rheum Dis.* 2000; 59 :81-82.
84. Katz RS, Wolfe F, Michaud K. Fibromyalgia diagnosis: a comparison of clinical, survey, and American College of Rheumatology criteria. *Arthritis Rheum.* 2006; 54: 169-176.
85. Harden RN, Revivo G, Song S, Nampiarampil D, Golden G, Kirincic M, et al. A critical analysis of the tender points in fibromyalgia. *Pain Med.* 2007; 8: 147-156.
86. Çetin A, Kaymak B. FMli Hastaya Yaklaşım. *İç hastalıkları dergisi.* 2004; 2: 77-83.
87. Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles MA, Goldenberg DL, Katz RS, Mease P, Russell AS, Russell IJ, Winfield JB, Yunus MB. The American College of Rheumatology preliminary diagnostic criteria for fibromyalgia and measurement of symptom severity. *Arthritis Care Res.* 2010; 62: 600-610.
88. Bennett R.M. Diagnostic Criteria and Differential Diagnosis of the Fibromyalgia Syndrome. *Journal of Musculoskeletal Pain.* 2004; 12: 59-64.
89. Goldenberg DL, Mossey CJ, Schmid CH. A Model of ases severity and impact of fibromyalgia. *J Rheumatol.* 1995; 22: 2313-8.
90. Bradley LA, Alarcon GS : Fibromyalgia. *Arthritis and Allied Conditions.* 13th edition (Ed. Koopman WJ) da. Williams & Wilkins, Baltimore. 1996: 1619-40.
91. Cheeseman KH, Slater TF. An intraduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 479-480.
92. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, Oxford, 1999.
93. Kehrer JP, Smith CV. Free radicals in biology: Sources, reactivities, and roles in the etiology of human diseases. In: Frei B (ed). *Natural Antioxidants in Human Health and Disease.* Academic Press, San Diego 1994; p. 25 -62.

94. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri. Mimoza Basın yayın dağıtım. Konya 1995; 32-42.
95. McCord JM. Human disease free radicals and oxidant balance Clin Biochem 1993; 26: 351-57.
96. Tekedereli İ. Glutatyon Peroksidaz 1 Genindeki Pro 197 Leu polimorfizminin Şizofreni Etiyopatogenezindeki Rolü ve Türk Populasyonundaki Allel dağılımı Uzmanlık Tezi Elazığ. Fırat Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Bölümü 2007.
97. Montgomery R., Dryer R., Conway T., Specter A.,(Eds) Biyokimya, (2000) (Çeviri Edt.Altan N.) 6 th.Ankara Palme Yayınevi, SS 68-94.
98. Clanton TL. Hypoxia-induced reactive oxygen species formation in skeletal muscle. J Appl Physiol. 2007; 102: 2379-88.
99. Dündar Y, Aslan R. Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi İnsizyon. 1999; 2: 134-142.
100. Meram İ, Aktaran Ş. Serbest Radikallerin Biomoleküller Üzerine Etkileri. Ç.Ü. Dergisi 2002; 3: 299-304.
101. Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. Amino Acids. 2003; 25: 207-18.
102. Stadtman ER. Oxidation of free amino acids and amino acids residues in proteins by radiolysis and metal-catalyzed reactions. Annu Rev Biochem 1993; 62: 797-821.
103. Stadtman ER. Protein oxidation and aging. Science 1992; 257: 1220-4.
104. Dizdaroğlu M. Chemical Determination of Free Radical-Induced Damage to DNA. J Free Rad Biol Med. 1993; 61: 225-242.
105. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem. 1995; 41: 1819-1828.
106. Slater FT. Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. Meth. Enzymol. 1984; 105: 283-293.
107. Ward PA, Warren JS, Johnson KJ. Oxygen radicals, inflammation, and tissue injury. Free Radic Biol Med. 1988; 5: 403-408.

108. Lankin VZ. The enzymatic systems in the regulation of free radical lipid peroxidation. *Free radicals, Nitric Oxide and Inflammation: Molecular, biochemical and clinical aspects. Nato Science Series.* 2003; 344: 8-23.
109. Grisham MB, McCord JM: Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites. In: AE Taylor, S Matalon, P Ward (eds). *Physiology of Oxygen Radicals.* American Physiological Society, Bethesda, 1986, pp 1–18.
110. Beckman JS, Freeman BA: Antioxidant enzymes as mechanistic probes of oxygen dependent toxicity. In: AE Taylor, S Matalon, P Ward (eds). *Physiology of Oxygen Radicals.* American Physiological Society, Bethesda, 1986, 39–53
111. Word RJ, Peters TJ. Free radicals. Kaplan LA, Pesce AJ editors. *Clinical chemistry.* 3th Ed. Mosby Year Book, Inc. 1996; 765-777.
112. Percival M. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights.* 1998; 98(10): 1-4.
113. Sorg O. Oxidative stress: a theoretical model or biological reality? *C.R.Biologies.* 2004; 327: 649-662.
114. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 69-76.
115. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low density lipoprotein. *FEBS Lett.* 1991; 286: 152-154.
116. Rousselot DB, Therond P, Beaudeau JL, Peynet J, Legrand A, Delatre J. High density lipoproteins and the oxidative hypothesis of atherosclerosis. *Clin Chem Lab Med.* 1999; 37: 939-949.
117. Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Milo S, Hoffman A, Billicke S, Draganov D, Rosenblat M. Human serum paraoxonases (PON-1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions. *Circulation* 2000; 101: 2510-17.
118. Henriksson KG. Chronic muscular pain: aetiology and pathogenesis. *Baillieres Clin Rheumatol.* 1994;8: 703-19.
119. Nazıroğlu M. Molecular mechanisms of vitamin E on intracellular signaling pathways in brain. In *Reactive Oxygen Species and Diseases*, Laszlo G (ed.). Research Signpost Press: Kerala, India, 2007; 239–256.



120. Akyol O, Zoroglu SS, Armutcu F, Sahin S, Gurel A. Nitric oxide as a physiopathological factor in neuropsychiatric disorders. *In Vivo* 2004; 18: 377–390.
121. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* 2006; 97: 1634–1658.
122. Sendur OF, Turan Y, Tastaban E, Yenisey C, Serter M. Serum antioxidants and nitric oxide levels in fibromyalgia: a controlled study. *Rheumatol Int.* 2009; 29: 629-33.
123. Neyal M, Yimenicioglu F, Aydeniz A, Taskin A, Saglam S, Cekmen M, Neyal A, Gursoy S, Erel O, Balat A. Plasma nitrite levels, total antioxidant status, total oxidant status, and oxidative stress index in patients with tension-type headache and fibromyalgia. *Clin Neurol Neurosurg.* 2012 Oct 11. pii: S0303-8467(12)00453-2. doi: 10.1016/j.clineuro.2012.08.028.
124. Durrington P.N, Mackness B, Mackness M.I. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 473-480.
125. Mackness, M.I, Halam, S.D. The Separation Of Sheep And Human Serum A- Esterase Activity Into The Lipoprotein Fraction By Ultracentrifugation. *Comp Biochem Physiol B.* 1985; 82: 675-677.
126. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. *Drug Metab Dispos.* 1991; 19: 100-6.
127. Lourdes R, Bharti M, Durrington PN, Hernandez A, Mackness MI. Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J.* 2001; 354:1-7.
128. Balcı EÖ, Donma O, Ekmekçi H. Paraoksonaz. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi.* 2004; 35: 78-82.
129. Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, Brumshtein B, Khersonsky O, Meged R, Dvir H, Ravelli RB, McCarthy A, Toker L, Silman I, Sussman JL, Tawfik DS. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2004; 11: 412-419.
130. Khersonsky O, Tawfik DS. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON-1 suggest that its native activity is lactonase. *Biochemistry.* 2005; 44: 6371-6382.

131. Antikainen M, Murtomäki S, Syväne M, Pahlman R, Tahvanainen E, Jauhiainen M. The Gln-Arg191 polymorphism of the human paraoxonase gene (HUMPONA) is not associated with the risk of coronary artery disease in Finns. *J Clin Invest.* 1996; 98: 883-5.
132. Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clin Sci.* 2004; 107: 435-47.
133. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The Human serum paraoxonase polymorphism: Identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet.* 1983; 35: 214-227.
134. Draganov DI, La Du BN. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2004; 369: 78-88.
135. Davies, H.G., Richter, R.J., Keifer, M., Broomfield, C.A., Sowalla, J. ve Furlong, C.E. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nature Genetics.* 1996; 14: 334-336.
136. La Du, B.N. 1992. Human serum PON-1/arylesterase. In *Pharmacogenetics Drug Metabolism* (Edited by Kalow W.), pp. 51-91. Pergamon Press, NewYork.
137. Bilecke S, Draganov D, Counsell R, et al. Human serum paraoxonase (PON-1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab Dispos* 2000; 28: 1335-1342.
138. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Paromo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998; 101: 1581-1590.
139. Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodelling of high-density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis* 1999; 145: 227-238.
140. Anonim, 2012a. PON-1 gene (*Homo sapiens*). [www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5444](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5444), (23.12.2012).

141. Jay W.H, Aldons J. Lysis Paraoxonase-Gene Polymorphisms Associated with Coronary Heart Disease: Support for the Oxidative Damage Hypothesis? *Am. J. Hum. Genet.* 1998; 62: 20-24.
142. Schmidt H, Schmidt R. PON-1 polymorphism Leu-Met54 is associated with carotid atherosclerosis: results of the Austrian Stroke Prevention Study. *Stroke.* 1998; 29: 2043-2048.
143. Humbert R, Adler D.A, Disteché C.M, Hassett C, Omiecinski, C.J, Furlong C.E. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet.* 1993; 3: 73-76.
144. Primo-Parmo S.L, Sorenson R.C, Teiber J, La Du B.N. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON-1) is one member of a multigene family. *Genomics.* 1996; 33: 498-507.
145. Pocsai Z, Tóth Z, Paragh G, Széles G, Adány R. Rapid genotyping of paraoxonase 55 and 192 mutations by melting point analysis using real time PCR technology. *Clin Chim Acta.* 2003; 332: 31-6.
146. Brophy V.H, Jampsa R.L, Clendenning J.B, McKinstry L.A, Jarvik G.P, Furlong C.E. Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase gene (PONI) expression. *Am J Hum Genet.* 2001; 68: 1428-1436.
147. Leviev I, James R.W. Promoter polymorphisms of human paraoxonase PON-1 gene and serum paraoxonase activities and concentrations. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20: 516-521.
148. Furlong CE, Cole TB, Jarvic GP, Costa LG. Pharmacogenetics considerations of the paraoxonase polymorphisms. *Pharmacogenomics* 2002; 3: 341-348.
149. Watson CE, Draganov DI, Billecke SS, Bisgaier CL, La Du BN. Rabbits possess a serum paraoxonase polymorphism similar to the human Q192R. *Pharmacogenetics.* 2001; 11: 123-134.
150. Imai Y, Morita H, Kurihara H, Sugiyama T, Kato N, Ebihara A, Hamada C, Kurihara Y, Shindo T, Oh-hashii Y, Yazaki Y. Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases. *Atherosclerosis.* 2000; 149: 435-442.

151. Baltter Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanche H, Passa P, Froguel P, et al. Paraoxonase polymorphism Met-Leu 54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased cardiovascular risk in diabetes. *J Clin Invest* 1997; 99: 62-66.
152. Leviev I, Deakin S, James RW. Decreased stability of the M54 isoform of paraoxonase as a contributory factor to variations in human serum paraoxonase concentrations. *J Lipid Res* 2001; 42: 528-535.
153. Furlong CE, Richter RJ, Seidel SL, Costa LG, Motulsky AG. Spectrophotometric assays for the enzymatic hydrolysis of the active metabolites of chlorpyrifos and parathion by plasma paraoxonase/arylesterase. *Anal Biochem.* 1989; 180: 242-247.
154. Burckhardt CS, Clark SR, Bennet RM. The Fibromyalgia impact Questionnaire: development and validation. *J Rheumatol* 1991; 18: 728-33.
155. Hisli N. Beck depresyon envanterinin üniversite öğrencileri için geçerliği, güvenilirliği. *Psikoloji Dergisi.* 1989; 7: 3-13
156. Wreje U, Brorsson B. A multicenter randomized controlled trial of injections of sterile water and saline for chronic myofascial pain syndromes. *Pain* 1995; 61: 441-444.
157. Nampiaparampil DE, Shmerling RH. A review of fibromyalgia. *Am J Manag Care.* 2004; 10: 794-800.
158. Moslen MT. Reactive Oxygen Species in Normal Physiology: Cell Injury and Phagocytosis, Free Radicals in "Diagnostic Medicine" , (Armstrong D., ed), 1-15, Plenum Press 1994; New York.
159. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, et al. Human serum Paraoxonase/Arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein A-I stabilizes activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19: 2214-2225.
160. Marchegiani F, Marra M, Olivieri F, et al. Paraoxonase 1: genetics and activities during aging. *Rejuvenation Res.* 2008; 11: 113-127.

161. Sögüt E, Ortak H, Aydoğan L, Benli İ. Association of Paraoxonase 1 L55M and Q192R Single- Nucleotide Polymorphisms With Age-Related Macular Degeneration. *Retina* 2013; doi: 10.1097/IAE.0b013e318287da59).
162. Altındag O, Gur A, Calgan N, Soran N, Celik H, Selek S. Paraoxonase and arylesterase activities in fibromyalgia. *Redox Rep.* 2007; 12: 134-8.
163. Hashemi M, Moazeni-Roodi AK, Fazaeli A, Sandoughi M, Taheri M, Bardestani GR, Zakeri Z, Kordi-Tamandani DM, Ghavami S. The L55M polymorphism of paraoxonase-1 is a risk factor for rheumatoid arthritis. *Genet Mol Res.* 2010; 9: 1735-41.
164. Hashemi M, Moazeni-Roodi AK, Fazaeli A, Sandoughi M, Bardestani GR, Kordi-Tamandani DM, Ghavami S. Lack of association between paraoxonase-1 Q192R polymorphism and rheumatoid arthritis in southeast Iran. *Genet Mol Res.* 2010; 9: 333-339.
165. Sendur OF, Tastaban E, Turan Y, Ulman C. The relationship between serum trace element levels and clinical parameters in patients with fibromyalgia. *Rheumatol Int.* 2008; 28: 1117–1121.
166. Sakarya ST, Akyol Y, Bedir A, Canturk F. The relationship between serum antioxidant vitamins, magnesium levels, and clinical parameters in patients with primary fibromyalgia syndrome. *Clin Rheumatol.* 2011; 30: 1039–1043.