

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FİBROMİYALJİ HASTALARINDA DÜŞÜK
SERUM D VİTAMİNİ SEVİYELERİNİN
OKSİDATİF HASAR İLE İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

İhsan KARABULUT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Hakim ÇELİK**

ŞANLIURFA

2019

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FİBROMİYALJİ HASTALARINDA DÜŞÜK
SERUM D VİTAMİNİ SEVİYELERİNİN
OKSİDATİF HASAR İLE İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

İhsan KARABULUT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Hakim ÇELİK**

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 17049 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2019

T. C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

İhsan KARABULUT'un hazırladığı " Fibromiyalji Hastalarında Düşük Serum D Vitamini Seviyelerinin Oksidatif Hasar ile İlişkinin Araştırılması " başlıklı çalışması 07/01/2019 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Fizyoloji Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak kabul edilmiştir.



BAŞKAN

Prof. Dr. Cahit BAĞCI
Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

ÜYE


Dr. Öğr. Üyesi Hakim ÇELİK
Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

ÜYE


Dr. Öğr. Üyesi Tuba ÖZGÖÇER
Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 18./01/2019 tarih ve 2019/01/08..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. Mustafa DENİZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca hiçbir zaman değerli bilgilerini esirgemeyen, tez dönemimde çalışmanın planlanmasında, hazırlanmasında, yazılmasında öncü olan danışman hocam sayın **Dr. Öğr. Üyesi HAKİM ÇELİK**'e,

Saygıyı, akademisyenliği, bilimin değerini öğrenmemde büyük pay sahibi olan bana fiziyojiiyi sevdiren, yüreğimde doldurulması zor bir yer bırakan merhum **Prof. Dr. ALİ ZİYA KARAKILÇIK**'a,

Fizyoloji eğitimimde desteklerini esirgemeyen, birçok konuda yanımda olan **Prof. Dr. MUSTAFA ZERİN**'e,

Çalışmada ilk günden bu yana yardımını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşım **Uzm. Dr. HATİCE SAYAN**'a,

Her konuda olduğu gibi bu süreçte de yanımda olan can yoldaşım, hayat arkadaşım, değerli eşim **BENAN YAZICI KARABULUT**'a ve hayatımın rengi, gül kızım **AFRA REYYAN KARABULUT**'a en içten saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO DİZİNİ.....	IV
ŞEKİL DİZİNİ	V
KISALTMALAR	VI
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Fibromiyalji.....	2
2.1.1. Fibromiyalji Nedir?.....	2
2.1.2. Fibromiyalji Tarihçesi.....	2
2.1.3. Fibromiyalji'nin Epidemiyolojisi.....	3
2.1.4. Fibromiyalji'nin Etyolojisi ve Patogenezi.....	4
2.1.5. Fibromiyalji'nin Klinik Bulgu ve Belirtileri	4
2.1.6. Fibromiyalji Sendromu ile Birlikte Bulunan Semptomlar ve Hastalıklar..	6
2.1.7. Fibromiyalji Tedavi Yöntemleri	6
2.2. Oksidatif Stres	9
2.2.1. Oksidatif Stres Sebepleri.....	10
2.2.2. Serbest Radikaller	11
2.2.3. Antioksidanlar	21
2.3. D Vitamini.....	26
2.3.1. D Vitamini Tarihçesi.....	26
2.3.2. D Vitamini Metabolizması.....	27
2.3.3. D Vitaminin Fizyolojik Etkileri	30
2.3.4. D Vitamini Reseptörü	30
2.3.5. D Vitamini Ölçüm Yöntemleri.....	31
2.3.6. D Vitamini Referans Aralıkları	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33

3.1. Çalışma Grubu.....	33
3.2. Kan Örnekleri.....	34
3.3. 8-OHdG (8-Hidroksideoksiguanozin) Ölçüm Yöntemi.....	35
3.3.1. 8-OHdG Kit Hazırlama Aşaması.....	35
3.3.2. 8-OHdG Ölçüm İşlemi.....	36
3.4. İleri Düzey Protein Oksidasyon Ürünleri (AOPP) Ölçüm Yöntemi.....	36
3.4.1. AOPP Eliza Kit Hazırlama Aşaması.....	36
3.5. 8-izoprostan Ölçüm Yöntemi.....	38
3.5.1. 8-izoprostan Eliza Kit Hazırlama Aşaması.....	38
3.6. Malondialdehit (MDA) Ölçüm Yöntemi.....	39
3.6.1. MDA Eliza Kit Hazırlama Aşaması.....	39
3.7. Protein Karbonil (PC) Ölçüm Yöntemi.....	40
3.7.1. PC Eliza Kit Hazırlama Aşaması.....	40
3.8. İstatistiksel Yöntem.....	41
4. BULGULAR.....	42
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	54
7. KAYNAKLAR.....	55
8. EKLER.....	63
Ek-1. Etik Kurul Onay Formu.....	63
Ek-2: İntihal Raporu.....	65
Ek-3: Tez Veri Giriş Formu.....	66
ÖZGEÇMİŞ.....	67

TABLO DİZİNİ

Tablo 2.1. Reaktif oksijen türleri (ROS)	11
Tablo 2.2. Reaktif nitrojen türleri (RNS)	12
Tablo 2.3. Serbest radikaller ve yol açtıkları reaksiyonlar	15
Tablo 2.4. Serbest radikallerin oluşma nedenleri	17
Tablo 2.5. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar	23
Tablo 2.6. Hidrofilik ve lipofilik antioksidanlar	25
Tablo 2.7. 25(OH)D vitamin düzeyine göre D vitamin durumu	32
Tablo 4.1. Hasta ve kontrol gruplarında yaş ve vücut kitle indeksinin karşılaştırılması	42
Tablo 4.2. Kontrol ve hasta gruplarında oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	45
Tablo 4.3. Fibromiyalji hastalarında D ₃ replasman tedavisi öncesi ve sonrası oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	46
Tablo 4.4. D vitamini ile oksidatif stres parametrelerinin birbirleriyle olan ilişkisi	47

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Fibromiyalji hastalarında hassas noktalar.....	5
Şekil 2.2. Oksidatif stres metabolizması.....	10
Şekil 2.3. Reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerinin vücuda etkisi	21
Şekil 2.4. D vitamini metabolizması.....	29
Şekil 2.5. D vitamini reseptörü	31
Şekil 4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarında AOPP Düzeyleri.....	43
Şekil 4.2. Hasta ve Kontrol Gruplarında MDA Düzeyleri	44
Şekil 4.3. Hasta ve Kontrol Gruplarında 8-İzoprostan Düzeyleri.....	45
Şekil 4.4. Hasta Grubunda Tedavi Öncesinde ve Tedavi Sonrasında 8-İzoprostan Düzeyleri	46

KISALTMALAR

8-OhdG: 8 hidroksideoksiguanozin

25(OH)D₃: 25-hidroksi-kolekalsiferol

ACR: Amerikan Romatoloji Derneği

AOPP: İleri Düzey Protein Oksidasyon Ürünleri

CAT: Katalaz Enzimi

CaT1: Epitelyal Kalsiyum Taşıyıcı

DBP: Vitamin D Bağlayıcı Protein

EULAR: Avrupa Romatizma Birliği

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

FEV1: Birinci Saniye Zorlu Ekspirasyon Volümü

FGF23: Fibroblast Büyüme Faktörü 23

FMS: Fibromiyalji Sendromu

GH: Büyüme Hormonu

GSH-P_x: Glutasyon Peroksidaz

GSH-Rd: Glutasyon Redüktaz

GST: Glutasyon S- transferaz

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

HPLC: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

IgE: İmmunoglobulin E

IgG: İmmunoglobulin G

LPO: Lipid Peroksit

MDA: Malondialdehit

NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat

OH[•]: Hidroksil Radikali

PC: Protein Karbonil

PEF: Maksimum Soluk Verme Akım Hızı

PML: Polimorfonükleer Lökosit

PON-1: Paraoksonaz-1 Aktivitesi

PTH: Parathormon

RNS: Reaktif Nitrojen Türleri

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

RSO[•]: Sülfenil Radikali

RSO₂[•]: Tiyil Peroksit Radikali

RXR: Retinoik X Reseptör

SABC: HRP- Streptavidin Konjugat

SCL-90: Ruhsal Belirtiler Tarama Listesi

SNRI: Serotonin-Noradrenalin Gerialım İnhibitörleri

SOD: Süperoksit Dismutaz

SSRI: Selektif Serotonin Gerialım İnhibitörleri

TAK: Total Antioksidan Kapasite

TENS: Transkutan Elektriksel Sinir Stimülasyonu

TMB: Tetrametilbenzidin

TOS: Total Oksidatif Seviye

UV: Ultraviyole

VDR: Vitamin D Reseptörü

VDREs: Vitamin D'ye Cevap Veren Elementler

VKİ: Vücut Kitle Endeksi



ÖZET

FİBROMİYALJİ HASTALARINDA DÜŞÜK SERUM D VİTAMİNİ SEVİYELERİNİN OKSİDATİF HASAR İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

İhsan KARABULUT

Fizyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Fibromiyalji yaygın kas ağrıları ile karakterize genellikle kadınlarda görülen kronik bir hastalık olup semptomları D vitamini eksikliği ile benzerdir. Fibromiyalji hastalarında oksidatif stresin arttığını gösteren birçok çalışma bulunmasına rağmen, D vitamini eksikliği olan fibromiyalji hastalarında oksidatif stresin nasıl değiştiği bilinmemektedir. Bu nedenle fibromiyalji hastalarında D vitamini eksikliğinin oksidatif stres üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık. Çalışmamıza D vitamini eksikliği olan fibromiyalji hastası 27 kadın (ortalama yaş; 37 ± 6) ile herhangi bir hastalığı olmayan 27 sağlıklı kadın (39 ± 7) dâhil edildi. Hasta grubundan tedavi öncesinde ve 2 aylık D vitamini replasman tedavisinden sonra olmak üzere iki kez, kontrol grubundan ise bir kez açlık venöz kanı alındı. Serum İleri Düzey Protein Oksidasyon Ürünleri (AOPP), Malondialdehit (MDA), 8-İzoprostan, 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), Protein Karbonil (PC) düzeyleri ELİSA yöntemi ile çalışıldı. D vitamini eksikliği olan hastalarda tedavi öncesi ve sonrası 8-OHdG, AOPP, MDA ve PC seviyelerin arasında anlamlı farklılık gözlenmezken ($p > 0,05$) tedavi sonrası 8-izoprostan seviyeleri anlamlı düzeyde azaldı ($p = 0,002$). Tedavi öncesi AOPP, MDA ve 8-izoprostan seviyeleri kontrol grubuna göre artarken (sırasıyla; $p = 0,002$, $p = 0,009$, $p < 0,001$) 8-OHdG ve PC seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Tedavi sonrasında ise hasta grubunda AOPP ve MDA seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artarken (sırasıyla; $p = 0,001$, $p = 0,003$) 8-OHdG, 8-izoprostan ve PC seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Ayrıca, AOPP, MDA ve 8-izoprostan seviyeleri ile serum D vitamini düzeyleri arasında anlamlı ters bir ilişki bulundu (sırayla; $\rho = -0,415$, $p = 0,002$; $\rho = -0,402$, $p = 0,003$ ve $\rho = -0,445$, $p = 0,001$). Sonuç olarak D vitamini eksikliği olan fibromiyalji hastalarında oksidatif stresin yüksek olduğu ve D vitamini replasman tedavisi uygulandıktan sonra oksidatif stresin kısmen düştüğü görüldü.

Anahtar Kelimeler: Fibromiyalji, D vitamini eksikliği, Oksidatif stres

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN OXIDATIVE DAMAGE AND LOW SERUM D VITAMIN LEVELS IN PATIENTS WITH FIBROMIALGIA

İhsan KARABULUT

Department of Physiology, Master Thesis

Fibromyalgia is a chronic disease characterized by widespread muscular pain and is usually similar in women with symptoms of vitamin D deficiency. Although there are many studies showing increased oxidative stress in fibromyalgia patients, it is not known how oxidative stress changes in fibromyalgia patients with vitamin D deficiency. Therefore, we aimed to investigate the effects of vitamin D deficiency on oxidative stress in patients with fibromyalgia. The study included 27 women with fibromyalgia disease (mean age; 37 ± 6) having vitamin D deficiency; 27 healthy control women having no disease (39 ± 7). Fasting venous blood was obtained from the patient group twice before treatment and after 2 months of vitamin D replacement therapy and once from the control group. Serum Advanced Protein Oxidation Products (AOPP), Malondialdehyde (MDA), 8-Isoprostan, 8-Hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), Protein Carbonyl (PC) levels were studied by ELISA method. There was no significant difference between the levels of 8-OHdG, AOPP, MDA and PC before and after treatment in patients with vitamin D deficiency ($p > 0.05$). 8-isoprostane levels decreased significantly after treatment ($p = 0.002$). Before treatment AOPP, MDA and 8-isoprostane levels increased compared to the control group ($p = 0.002$, $p = 0.009$, $p < 0.001$, respectively), but no significant difference was observed in 8-OHdG and PC levels. After the treatment, AOPP and MDA levels increased significantly in the patient group compared to the control group ($p = 0.001$, $p = 0.003$, respectively) but no significant change was observed in 8-OHdG, 8-isoprostane and PC levels. In addition, a significant inverse relationship was found between levels of AOPP, MDA and 8-isoprostane and serum vitamin D levels ($\rho = -0.415$, $p = 0.002$; $\rho = -0.402$, $p = 0.003$). As a result, it was observed that oxidative stress was higher in patients with vitamin D deficiency and oxidative stress decreased partially after vitamin D replacement therapy.

Keywords: Fibromiyalgiya, Vitamin D deficiency, Oxidative stres

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Fibromiyalji hastalığı erkeklere nazaran genellikle kadınlarda görülen (9:1), vücutta bazı noktalarda spesifik olmakla beraber yaygın ağrı ile tarif edilen ve toplumda sık karşılaşılan kronik bir rahatsızlıktır. Fibromiyalji sendromuna eşlik eden ikincil belirtiler; uykusuzluk, baş ağrısı, halsizlik, depresyon hali, iştahsızlık gibi günlük yaşam aktivitelerini zorlayıcı ve kısıtlayıcı rahatsızlıklardır (1).

D vitamini, D₂ ve D₃ olmak üzere vücutta iki şekilde bulunmaktadır. D₂ vitamini bitkilerden alınmakta olup D₃ vitamini hayvansal gıdalardan elde edilir. Bu iki D vitamini tipi karaciğerde, dolaşım sisteminde yüksek oranda yer alan 25(OH)D formuna dönüştürülür. Kandaki serum D vitamini düzeyi de 25(OH)D seviyesi ile ölçülür. D vitamini eksikliği < 20 ng/ml olarak tanımlanırken dünyada yüksek oranda prevalansı gözlemlenmektedir. D vitamini eksikliğinin birçok kronik rahatsızlıkla ilişkisi bilinmektedir. Ayrıca klinik belirtileri fibromiyalji hastalığının klinik belirtileriyle benzeşmektedir (2).

Organizmalarda enzim aktiviteleri sonucu oluşan serbest radikallerle ile antioksidatif değerler sürekli denge içersindedirler. Bu dengenin değişmesi oksidatif stresi meydana getirmektedir. Oksidatif stresin artması sonucu sırasıyla hücre, doku, organlar ve en sonunda sistemlerde rahatsızlıklar meydana gelebilir. Geçmiş çalışmalarda oksidatif stresin birçok rahatsızlıkla olan ilişkisi belirtilmektedir (3).

Bu çalışmadaki amacımız; Fibromiyalji hastalığıyla birlikte sıklıkla görülen düşük D vitamini serum düzeyinin oksidatif hasar parametreleriyle ilişkisini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fibromiyalji

2.1.1. Fibromiyalji Nedir?

Fibromiyalji kelime bileşenleri bakımından incelendiğinde;

Fibro: Fibröz doku

Myo: Kas

Algos: Ağrı

Fibromiyalji nedeni belli olmayan, enflamatuvar ya da otoimmün olmayan, eklem dışı romatizmal yumuşak doku hastalığıdır. Fibromiyalji yumuşak doku rahatsızlıkları sınıfında incelenen belli başlı rahatsızlıkların eşlik ettiği kronik bir hastalıktır. Basit bir tanımla fibröz dokuda ve kas dokusunda meydana gelen ağrı sendromudur (4).

2.1.2. Fibromiyalji Tarihçesi

1843 yılında Froriep ilk kez fibromiyaljiyi romatolojik ve kas ağrılılarıyla karakterize bir hastalık olduğunu tanımlamıştır (5). 1904 senesinde Sir William Gowers hastalığa başka bir tanım getirerek fibrozitis terimini kullanmıştır. Uzunca bir süre fibrozitis bazı bilim insanlarına göre kas ağrısının genel nedeni olarak; bazı bilim insanlarına göre stres ya da psikolojiye bağlı romatolojik rahatsızlığın belirtileri olarak incelenmiş ve uluslararası romatoloji birlikleri tarafınca anlamsız görülmüştür (6). 1970'li yıllarda Smythe ve Moldofsky fibromiyalji terimini bağ dokusu inflamasyonunun yanı sıra bir ağrı bozukluğu olarak tanımlamışlardır (7).

Fibromiyalji hastalığı hakkında Amerikan Romatoloji Derneği (ACR) tarafından tanı kriterleri 1990 senesinde belirlenmiştir (8). Bu tanı kriterlerine göre birey en az 3 aydan beri süregelen vücudun genelinde ağrı hikâyesine sahip olmalı ve klinik belirtisinde belirli 18 noktadan en az 11'i veya daha fazlasında aşırı duyarlılık ve ağrı olması gerekmektedir. ACR'nin 1990 senesinde belirlediği tanı kriterleri, fibromiyalji tanımına belirli bir düzen oturtmuştur. Bu tanı ölçütleri, hastaların teşhisinin

hızlanmasında, klinik tanıda uyumun sağlanmasında ve hastalığı inceleyen birçok araştırmada esas kriterlerdir. Buna rağmen fibromiyalji hastalarında hassas noktalarda ağrı dışında aşırı hassas kalın bağırsak belirtileri, atipik göğüs ağrısı, temporomandibuler eklem bozukluğu, yorgunluk, uyku düzensizliği, nörohormonal fonksiyon bozukluğu sekonder rahatsızlıklar olabilir (9).

1990 yılında yayınlanan tanı kriterlerinin fibromiyalji hastalığını sınıflandırmada ve tedavide diğer etmenleri dışlanmada yetersiz kaldığı tespit edilmesiyle 2010 yılında ACR genel ağrı tanımlama içeriği ve belirti şiddeti skorlaması içeren güncel tanı ölçütleri yayınlamıştır (10).

Fibromiyalji hastalığı ve sekonder rahatsızlıkların tespit edilmesindeki ana ilerleme, bilim insanlarının hastalığın etyolojisinde merkezi nöral yapıların yer aldığına farkına varmasından sonra meydana gelmiştir (11). Yakın zamanda yapılan araştırmalarda fibromiyaljinin merkezi ağrı sisteminin bozukluğuyla karakterize çok yönlü bozukluk olduğu gözlenmiştir. Aktüel olarak merkezi hassasiyet veya merkezi ağrı sendromu ve kronik çok yönlü hastalıklar terimleri de tanımlamada yer almıştır (12, 13).

2.1.3. Fibromiyalji'nin Epidemiyolojisi

Fibromiyalji hastalığı yetişkinlerde görülme sıklığı takriben %2 olup kadınlarda erkeklere oranla ve beyaz ırkta diğer ırklara göre hastalığın bulunma oranı daha yüksektir. Fibromiyalji hastalığı görülme sıklığı yaşlandıkça artmakta ve 60 yaş üzerindeki kadınlarda görülme sıklığı %7 civarındadır (14).

Amerika Wichita Kansas'ta yapılan çalışmada fibromiyalji hastalığının yetişkinlerdeki görülme sıklığı %2 (kadınlarda %3,5, erkeklerde %0,5) olarak gözlenmiştir (15). Ülkemizde yapılan benzer bir araştırmada 20-64 yaş kadınlarda görülme sıklığı benzer olarak %3,6 bulunmuştur. Türkiye'de her sene takriben 100.000 bireye fibromiyalji tanısı konulmaktadır (16).

Prevelansda yaş aralığı incelendiğinde fibromiyalji belirtilerinin 40-60 yaş arasında artarak ortaya çıktığını, görülme sıklığının yaşla birlikte doğru orantılı arttığını,

belli başlı hastalığa yatkınlık durumları arasında cinsiyetin kadın olması, düzensiz yaşam biçimi, düşük eğitim ve gelir seviyesi olduğu gözlenmiştir (17, 18).

2.1.4. Fibromiyalji'nin Etyolojisi ve Patogenezi

Fibromiyalji sendromunda etyoloji tam olarak kesinleşmemekle beraber fibromiyaljinin meydana gelmesinde katkıda bulunan birçok mekanizma olduğu düşünülmektedir.

Genel başlıklar halinde bakıldığında hastalık sebepleri (19):

1. Genetik faktörler
2. Çevresel faktörler
3. Nöroendokrin anormallikler
4. Duygusal ve fiziksel faktörler

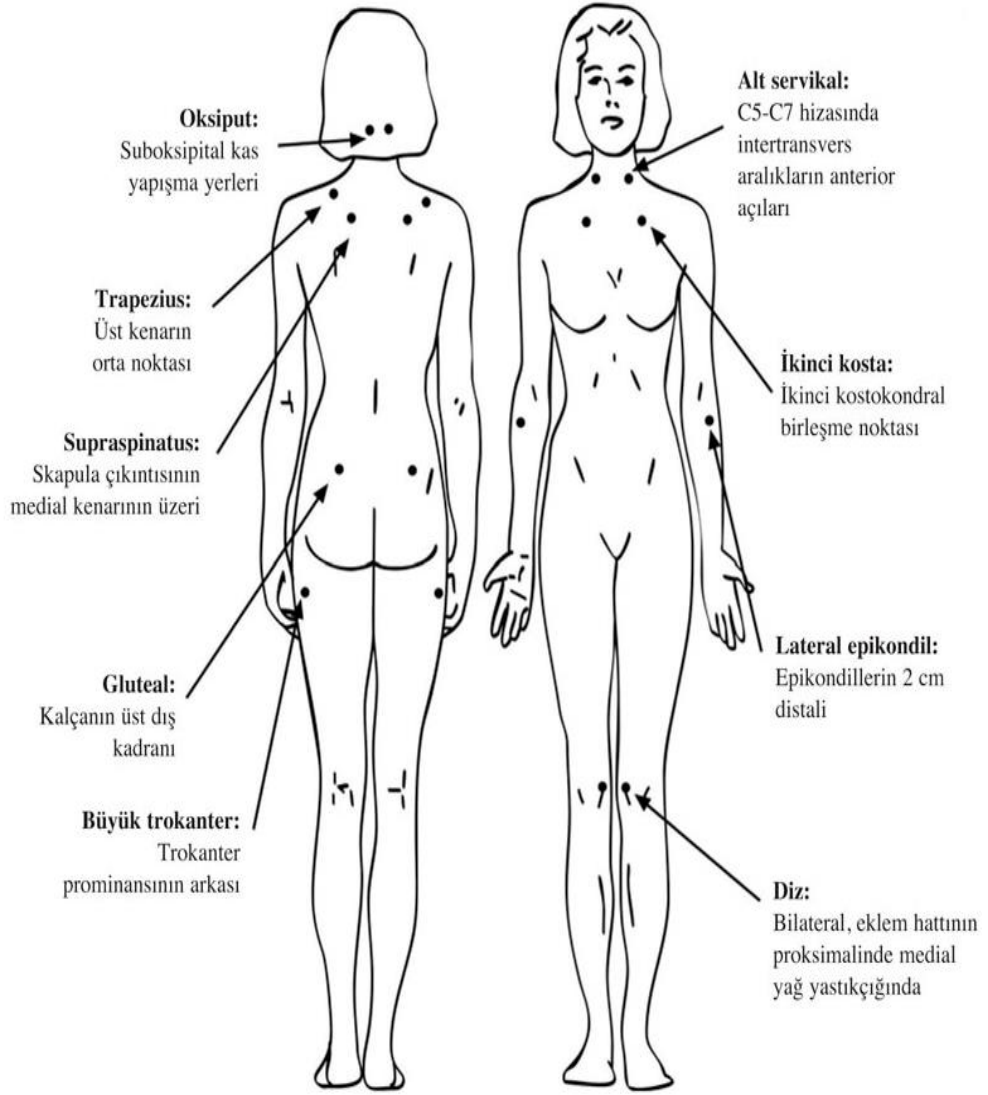
Patogeneze genel olarak bakıldığında:

1. Kas fizyolojisi bozuklukları
2. Uyku bozukluğu
3. Nöroendokrin bozukluğu
4. Nöropeptid anomalileri

2.1.5. Fibromiyalji'nin Klinik Bulgu ve Belirtileri

Fibromiyalji hastalığına tanı koymada klinik semptomlar çeşitlilik göstermektedir. Ana semptomlar sürekli genel ağrı ve belli bölgelerde hassas noktalar. Yorgunluk, uyku bozukluğu, şişlik hissi, his bozukluğu, vertigo, güç kaybı hastalığın en çok görülen belirtileridir. Birincil şikâyet ağrıdır ve kimi zaman bazı noktalarda daha çok hissedilir. Fibromiyaljili hastalarında çok çeşitli düzensiz ağrılar görülmekle birlikte hastalar ağrıyı farklı biçimlerde tarif etmektedirler (20).

ACR sınıflandırma ölçütlerine göre vücudun genelinde görülen ağrı noktalarından haricinde 18 spesifik hassas nokta tanı kriterlerinde önemli yer tutmaktadır. Bu noktalar Şekil 2.1' de gösterildiği gibi (8);



Şekil 2.1. Fibromiyalji hastalarında hassas noktalar (8)

Hastaların yorgunluk öyküsü incelendiğinde 10 hastanın 7'sinde sabah yorgunluğunun fazla olmasıyla birlikte gün boyu yorgunluk yaşandığı gözlenmiştir. Belirgin ve ölçülebilir kas kaybı olmamasına rağmen kaslarda genel bir güçsüzlük mevcuttur. Bunun haricinde fibromiyalji hastalarının önemli bir bölümü (kadınlarda %58, erkeklerde %80) kronik yorgunluk sendromu kriterlerini karşılamaktadır (21).

Hastaların çoğu uykuya dalma problemi ve geceleri uzun süreli uyuyamama gibi uyku bozukluklarından şikâyet ederler. Sabahları yorgun uyanma ve yataktan güçlükle uyanmak bir diğer şikâyet olarak tespit edilmiştir. Hastaların çoğunda başta üst ve alt ekstremitelerde olmak üzere organizmanın herhangi bir yerinde uyuşma, karıncalanma gibi his bozukluğu yakınmaları vardır. Özellikle üst ekstremitenin eklemlerinde ve yumuşak

dokularında ödem fibromiyalji tanılı hastalarda görülen genel belirtilerdendir. Ancak klinikte objektif yumuşak doku ödemi veya artrit görülmez (22).

2.1.6. Fibromiyalji Sendromu ile Birlikte Bulunan Semptomlar ve Hastalıklar

Fibromiyaljili hastalarda hastalığa eşlik eden bazı hastalıklar ve semptomlar mevcuttur. Bunlar (23);

1. Düzensiz bağırsak sendromu
2. Baş ağrısı
3. Huzursuz bacak sendromu
4. Temporomandibüler eklem bozukluğu
5. Sürekli yorgunluk belirtisi
6. Düzensiz mesane sendromu
7. Travma sonrası stres bozukluğudur.

2.1.7. Fibromiyalji Tedavi Yöntemleri

Fibromiyalji hastalığının altında yatan sebepler tam olarak bilinmediği için, öne çıkan belirtiler ve bunların seviyeleri ve hastanın durumuna göre farmakolojik ve nonfarmakolojik tedavi planları uygulanır. Fibromiyalji hastalarının bir kısmı için iyi bir hasta-hekim ve fizyoterapist iletişimi, hastalığının süreci ile ilgili bilgi verme, egzersiz programı ve zaman zaman analjezik kullanımı yeterliyken; diğer bir kısmı için birçok tedavi yöntemi anlamsız kalmakta ve farklı alanlardan uzmanların kollektif çalışması gerekebilmektedir. Tedavi yöntemlerini 4 başlık altında inceleyebiliriz (24):

1. Farmakolojik tedavi
2. Fizik tedavi
3. Hasta eğitimi
4. Psikolojik destek

Farmakolojik Tedavi

Fibromiyalji hastalığının tedavisinde ağrı kesiciler, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar, kas gevşeticiler antidepresanlar ve antiepileptikler önemli bir yer tutmaktadır.

Trisiklik antidepresan çeşitlerinden olan amitriptilin antidepresan ilaçlar arasında sıklıkla kullanılan ilaç çeşididir (25). Trisiklik antidepresanların ağrı kesici etkilerinin nöron uçlarında serotonin ve norepinefrinin geri kazanılmasını engelleyerek, inen antinosiseptif mekanizma aracılığıyla olduğu bilinmektedir. Amitriptilin kısa süreli kullanımlarında önemli bir iyileşme gözlemlenirken uzun süreli kullanımlarda iyileşme oranının azaldığı saptanmıştır. Serotonin geri alım inhibisyonu yapan antidepresan ilaçların (SSRI) depresyon teşhisi olmayan hastalarda tedaviye etki edip etmediğine ilişkin araştırma sonuçları netleşmemiştir (26). Pregabalin nöropatik ağrıda kullanılmasıyla sebebiyle fibromiyaljide kullanılan bir diğer ilaç türüdür (27).

Fizik Tedavi

Fizik tedavi yöntemlerinin ve uygulamalarının fibromiyalji sendromunun semptomlarını azaltıcı giderici ve aynı zamanda hastalığı tedavi edici yönleri bulunmaktadır. Bunlar (28);

1. Postür eğitimi
2. Günlük yaşam aktivitelerini düzenleme
3. Elektroterapi ajanları
4. Gevşeme egzersizleri
5. Aerobik egzersizler
6. Masaj
7. Kuru iğneleme vs.

Fibromiyalji tedavisinde kullanılan elektroterapi ajanları yüzeysel ısıtıcılar, derin ısıtıcılar, analjezik akımlar olmak üzere 3 ana başlık halinde bulunmaktadır. Bu yöntemlerin amacı ağrı ve kas iskelet sistemi belirtilerinde iyileşmeye vesile olmaktır.

Hotpack, infraruj, parafin yüzeysel ısıtıcılarından bazılarıdır. Vazodilatasyon, kan dolaşım hızında artış, ağrı eşiğinde ve bağ dokusu esnekliğinde artış yüzeysel ısınmanın fizyolojik etkileri olarak bilinmektedir. Fakat travmatik rahatsızlığın akut döneminde, dolaşımsal rahatsızlıklarda ve his bozukluğunda yüzeysel ısıtıcılar kullanımında dikkat edilmeli gerekirse tedavide yer almamalıdır (29) .

Yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalar özelliğine sahip olan kısa dalga diatermi derin ısıtıcı grubundadır. Ağrıyı azaltır ve kas iskelet sisteminde gevşemeye neden olur, damarlarda genişleme sağlar, metabolizma hızını artırır. Ultrason da derin ısıtıcı grubunda yer alır. Nontermal etkileri ise kavitasyon ve mikromasaj mekanizması meydana getirir (29).

Transkutan elektriksel sinir stimülasyonu (TENS), Diadinamik akım ve interferansiyel akımın ağrı kesici ve kas kasılmasını sağlayan yapıcı etkileri bulunmakta olup bu akımlar analjezik akım grubundadır. Kas iskelet sistemi, koroner ve ürogenital hastalıkların tedavi protokolünde yer almaktadır (29).

Fibromiyalji tedavi protokolünde yer alan egzersizler, kişinin mobilizasyonunu arttırmaya yönelik ve vücut elastikiyetini, kas kuvvetini, direncini, vücudun majör kas grubu koordinasyonunu geliştirmeyi amaçlayan egzersizlerdir. Aerobik egzersizler ile kardiyovasküler yapılarda, kalbin dakikadaki atım hacminde, kalp atım hızında, tidal volumde, kan basıncında ve vital kapasitede artış görülür. Bunun haricinde endokrin sistem üzerindeki değişiklikler gözlemlendiğinde glukagon, GH, kortizol, androjenler, epinefrin ve norepinefrin seviyeleri artar (30).

Fibromiyaljili hastalar genellikle hareketsiz bir yaşama ve buna bağlı olarak ağrı ve yorgunluk gibi belirtilere sahiptir. Fibromiyalji hastalarının tedavi protokolünde yer alan nonfarmakolojik tedavi çeşitlerinden egzersizler çok önemlidir. Ağrı ve bunla beraber immobilizasyon fibromiyalji belirtilerini arttırdığı gözlenmiştir (31). Egzersiz, hareketsiz yaşama bağlı istenmeyen etkileri azalttığı gibi; kişinin günlük yaşam aktivitelerinde zinde kalmasına vesile olur. Özellikle oksijen tüketimine dayalı ve kuvvet egzersizlerinin bazı hastalarda yararlı etkileri olacağını Avrupa Romatizma Birliği (EULAR) yayınlamıştır (32).

Ayrıca fibromiyalji tedavisinde aerobik egzersizler kas iskelet sisteminde mikro düzeyde hasara karşı dayanıklılık sağlar. Direnç, kuvvet ve elastikiyet oranı yükselir, genel mobilizasyon düzeyi artar, egzersizle antidepresif etki oluşturularak kas gevşemesi elde edilir (33).

Hasta Eğitimi

Fibromiyalji hastaların günlük yaşamda dikkat etmesi gereken bazı durumlar mevcuttur. Bunlar hastaya uygun bir şekilde anlatılmalı ve hasta takip edilmelidir. Günlük yaşamda hastaların dikkat edeceği durumlar semptomları azaltıcı etkiye sahiptir. Hastalık süreciyle ilgili bilgilendirme hastanın birçok noktada rahatlamasına ve hastalıkla ilgili şikâyetlerinin azalmasına neden olacaktır. Hastalık süreciyle ilgili bilgilendirme hastanın hastanın koruyucu yöntemleri uygulayabilmesi adına pozitif etki gösterebilmektedir (34).

Psikolojik Destek

Uygun görülen tetkiklerde herhangi bir ayırıcı bulgu olmayışı klinisyenlerde belirti ve bulguların psikolojik temelli olabileceği düşüncesini uyandırmaktadır. Beck Depresyon Ölçeği, SCL-90 sonuçları sıklıkla kontrol grubuna göre yüksek gözlenmiştir. Hastalıkla beraber gözlenen farklı psikiyatrik rahatsızlıklar farklı belirtileri arttırmaktadır. Kliniğe gelen hastaların 5'te 1'i depresif olup yarısının geçmişinde depresyon öyküsü bulunmaktadır. Bu sebeple hastalığın altında yatan psikolojik etmenleri gidermeye veya azaltmaya yönelik tedavi protokolü hastalığın tedavisi açısından önemlidir (35).

2.2. Oksidatif Stres

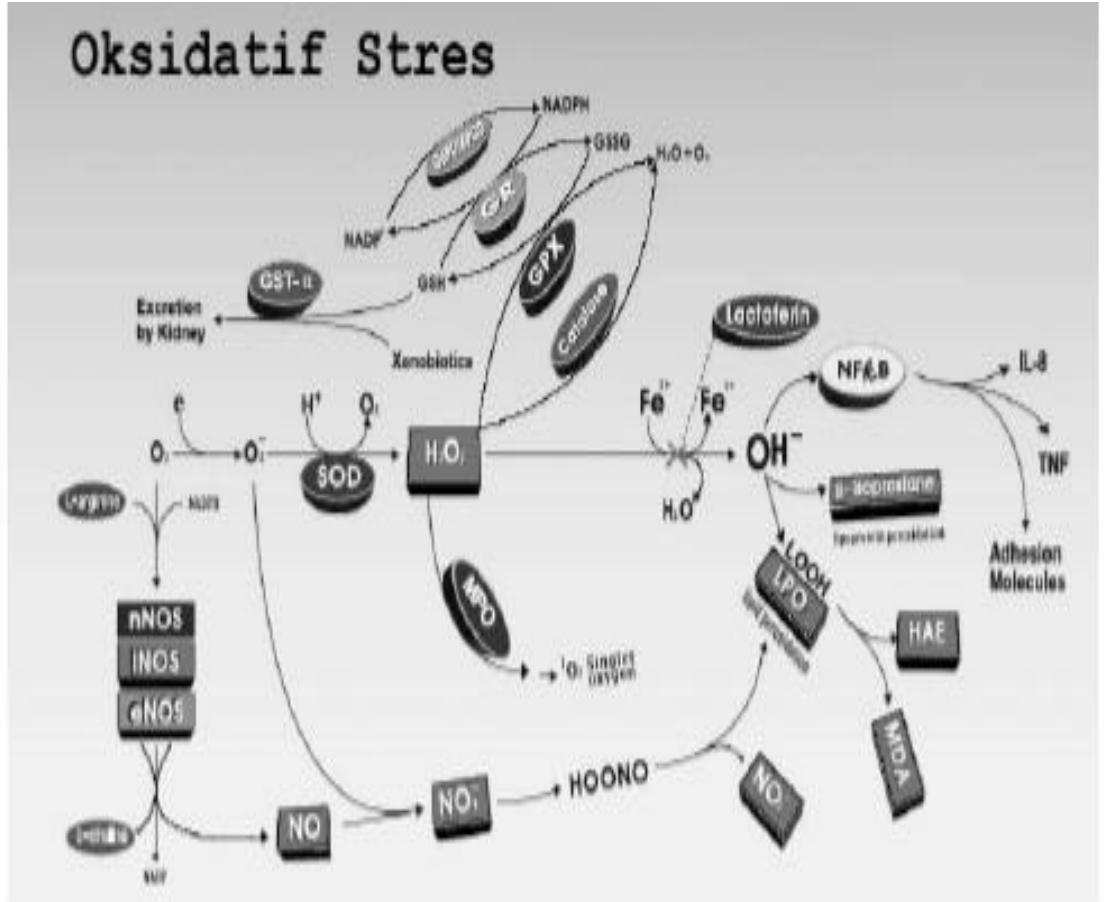
Normal koşullarda oluşan reaktif oksijen türleri ile antioksidan sistem arasında denge söz konusudur. Reaktif oksijen ürünlerinin fazlaca üretilmesi ya da antioksidan savunma sisteminin zayıflaması neticesinde denge bozulur ve oksidatif stres meydana gelir (36). Reaktif oksijen türleri biyomoleküllerin oksidasyonunu sağlayabilirler. Hücredeki bileşenlerin kontrolsüz oksidasyonu gerçekleşirse oksidatif stres oluşur. Oksidatif stres lipit peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, DNA'da baz hasarına, tek ve çift zincir kırılmalarına neden olmaktadır (37).

Astım, ateroskleroz, serebrovasküler hastalıklar, kronik obstruktif pulmoner hastalık, konjestif kalp yetmezliği, diyabet, hipertansiyon, grip, kalp krizi, bazı pnömoniler, hepatit, kanser, inflamatuvar hastalıkların oksidatif stres parametreleri seviyesi ile ilişkisi saptanmıştır (38).

2.2.1. Oksidatif Stres Sebepleri

Oksidatif stres oluşmasında metabolizmanın fizyolojik etmenleri yanısıra birçok sebepleri bulunmaktadır. Bunlar;

1. Toksin ya da patojenlere maruz kalınması
2. Zayıf antioksidan sistemi
3. Düzensiz yaşam ve uyku
4. Aşırı yoğun aerobik egzersiz
5. Günlük metabolik ürünler



Şekil 2.2. Oksidatif stres metabolizması (39)

2.2.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, oksijenli solunum ile besinlerin enerjiye dönüşümü sırasında oluşan reaktif moleküllerdir. Reaktif oksijen türleri olarak bilinen serbest radikaller kararsız yapıdadırlar ve kararlı yapıya ulaşınca kadar hücrenin temel yapıtaşı ve bileşenlerinde hasar oluştururlar (40).

Serbest radikaller bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek enerjili atom veya moleküller olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikaller kararsız yapıya sahip olmalarından dolayı canlıda bulunan diğer maddelerle reaksiyona girebilmeleri daha kolaydır. Hücresel yapıda veya dokularda bulunan diğer maddeler kararlı yapıda olduklarından serbest radikallere göre reaksiyona girme eğilimleri azdır. Serbest radikaller oksijen (Tablo 2.1) ve nitrojen kaynaklı olabilir (Tablo 2.2).

Oksijen kaynaklı serbest radikaller reaktif oksijen türleri (ROS), nitrojen kaynaklı serbest radikaller reaktif nitrojen türleri (RNS) diye isimlendirilir. Süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH^-), peroksil (ROO^-), lipit peroksil (LOO^-), ve alkoksil (RO^-) radikalleri reaktif oksijen türleri başlığı altında yer almaktadır. Reaktif nitrojen türleri de nitrik oksit (NO^-) ve nitrojen dioksit (NO_2) olarak iki kısımda incelenmektedir. ROS ve RNS diğer radikal olmayan reaktif türlere kolayca dönüşebilir. Hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), singlet oksijen (1O_2), hipokloröz asit ($HOCl$), nitrik asit (HNO_2), peroksinitrit ($ONOO^-$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve lipit peroksit ($LOOH$) oksidanlar arasında yer almasına rağmen serbest radikaller arasında sınıflandırılmazlar. Bu oksidan türleri normal şartlarda organizmalar tarafından üretilir ve canlılarda kolaylıkla serbest radikalın yol açtığı etkilere sahiptirler (41).

Tablo 2.1. Reaktif oksijen türleri (ROS) (42)

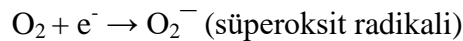
Radikaller		Nonradikaller	
Süperoksit	O_2^-	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil	OH^-	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	ROO^-	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksil	RO^-	Singlet oksijen	1O_2
Hidroperoksil	HO_2^-	Ozon	O_3
Lipid peroksil	LOO^-		

Tablo 2.2. Reaktif nitrojen türleri (RNS) (42)

Radikaller		Nonradikaller	
Nitrik oksit	NO ⁻	Nitrik asit	HNO ₂
Nitrojen dioksit	NO ₂ ⁻	Nitrosil katyonu	NO ⁺
		Nitroksil anyonu	NO ⁻
		Dinitrojen tetraoksit	N ₂ O ₄
		Dinitrojen trioksit	N ₂ O ₃
		Peroksinitrit	OONO ⁻
		Peroksinitröz asit	OONOH
		Nitronyum katyonu	NO ₂ ⁺
		Alkil peroksinitrit	ROONO

Süperoksit Radikalleri (O²⁻)

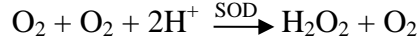
Süper oksit radikali canlılarda oluştuğu ilk kez ispat edilen serbest radikal olup hasar oluşturma özelliği fazla olmayan H₂O₂ kaynaklarından birisidir. Oksitleyici ve metal iyonları indirgeme özelliğine sahiptir. Bazı organik moleküller hücresel sistemde oksijenle tepkimeye girerken süperoksit oluşumuna sebep olmaktadır. Mitokondri organelinde enerji üretimi sırasında yakılan oksijenin %15 kadarı süperoksit oluşmasına neden olmaktadır. Fagositik lökositler aracılığıyla fazlaca miktarda süperoksit üretilerek hücre içersine süperoksit radikali verilmektedir. Anti bakteriyel faaliyet için elzem olan bu radikal üretimi, daha reaktif türlerin oluşmasını da başlatmaktadır. Süperoksit radikalının tek başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün değildir. Ancak süperoksit radikalleri oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonların öncülü olabilir (43). Bu reaksiyonların en önemlilerinden biri Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyonda O₂ ve H₂O₂ demir ile reaksiyona girerek oldukça reaktif olan HO⁻ radikallerini oluşturmaktadırlar.



Hücre zarı fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeylerinin pH değeri sitoplazmaya oranla daha düşük değerdedir ve süperoksit hücre zarı yüzeylerinde daha kolay bir şekilde proton alarak hidrojen peroksit radikalini meydana getirebilmektedir.

Üretilen bu OH^- radikalleri oldukça etkili olup DNA gibi yapılarla reaksiyonlara girerek önemli hasarlara yol açabilmektedir (44-46).

Süper oksit radikalleri çok kısa bir yarı ömre sahip olup dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 ve oksijen üretirler. Dismutasyon reaksiyonu kendiliğinden meydana gelmekte ve reaksiyon SOD enzimi ile katalize edilmektedir (47).



Hidroksil Radikalleri (HO^\cdot)

Hidroksil radikali, canlılarda bulunan en güçlü serbest radikal çeşididir. Organizma yapıları radyasyonla karşılaştıklarında, yüksek oranda radyoaktif enerji hücrede bulunan suya absorbe edilip yüksek enerji oksijen-hidrojen arasında kovalent bağ oluşur. Sonuçta şekilde görüldüğü gibi iki radikal meydana gelir. Bu radikallerden biri hidrojen (H^\cdot) ve diğeri ise hidroksil radikalidir (OH^\cdot) (48).



Hidroksil radikali aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA da bulunan pürin ve pirimidin bazları ile etkileşim içerisine girerek serbest radikal oluştururlar. Bir dizi reaksiyona katılabilen OH^\cdot radikalleri DNA'nın baz ve şekerlerinde yüksek oranda zararlar oluşturarak DNA zincir hasarına sebep olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücre koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (43, 45, 49).

OH^\cdot 'nin sebep olduğu en önemli biyolojik hasar lipid peroksidasyon olayıdır. OH^\cdot membran fosfolipitlerinin doymamış yağ asit yan zincirlerine hücum eder. Böylece OH^\cdot radikalleri, yüzlerce yağ asitlerinin yan zincirlerini lipid hidroperoksitlere dönüştürür. Membranda lipid hidroperoksitlerinin birikimi membran fonksiyonunu bozar. Peroksil radikaller ve sitotoksik aldehitler, membran proteinlerinde yüksek oranda zarara sebebiyet verirler ve membrana bağlı bazı enzimleri ve alıcıları inaktif hale getirirler (44, 50, 51).

Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Oksijenin enzimlerle tepkimesi sonucunda iki elektronla indirgenmesi veya süperoksit radikallerinin enzimlerle ve enzimlerle olmayan tepkimesi ile oluşan

dismutasyon reaksiyonları neticesinde hidrojen peroksit meydana gelmektedir. Metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin meydana gelmesine sebebiyet vermesi oksitleyici bir çeşit serbest radikal olarak bilinmesini sağlamaktadır. Proteinlerin yapısındaki hem grubunda bulunan demir ile reaksiyona girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir yapılarını meydana getirmesi H_2O_2 'nin bir diğer önemli özelliğidir. Reaktif demir formu hücre membranlarında lipid peroksidasyonu vb. radikal reaksiyonların başlangıcı olabilmektedir (52, 53).

Singlet Oksijen ($O_2^{\uparrow\downarrow}$)

Singlet oksijen, oksijenin uyarılmış şekli olarak kısaca tanımlanabilir. Reaktif kapasitesi çok yüksek seviyede olan bir oksijen çeşididir. Singlet oksijen doymamış yağ asitleri ile direkt tepkimeye girerek peroksil radikalini meydana getirmekte ve hidroksil radikali kadar faal bir şekilde lipid peroksidasyonunda rol alabilmektedir. Karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Karbon-karbon çift bağlarını oluşturulan başlıca bileşikler bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşiklerdir. Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni inhibe ederek onunla ilişkin reaksiyonları ortadan kaldırmaktadır (54). Serbest radikaller ve yol açtıkları reaksiyonlar Tablo 2.3'de verilmiştir (55).

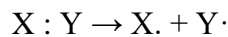
Tablo 2.3. Serbest radikaller ve yol açtıkları reaksiyonlar (55)

SERBEST RADİKAL		MEYDANA GELEN REAKSİYONLAR
Süperoksit	$\cdot\text{O O}\cdot$	Fe^{2+} ve Cu^+ iyonlarını geri kazanma yoluyla Haber-Weiss reaksiyonunu katalizleme, hidrojen peroksit veya peroksirinit oluşumu
Hidrojen peroksit	HO-OH	Hidroksil radikali oluşumu, enzim inaktivasyonu, biyomoleküllerin oksidasyonu
Hidroksil radikali	$\text{OH}\cdot$	Hidrojen çıkarılması, serbest radikallerin ve lipid peroksitlerin oluşumu, tiyol oksidasyonu
Ozon	$\text{O}=\text{O}+\cdot\text{O}\cdot$	Bütün biyomoleküllerin özellikle çift bağ içerenlerin oksidasyonu, sitotoksik aldehid ve ozonit oluşumu
Oksijen	$\text{O}=\text{O}$	Çift bağlarla reaksiyon, peroksitlerin oluşumu, aminoasit ve nükleotitlerin oluşumu
Nitrik oksit	$\text{N}=\text{O}$	Peroksinitrit oluşumu, diğer radikallerle reaksiyon
Peroksinitrit	$\text{O}=\text{N}-\text{O}-\text{O}\cdot$	Hidroksil radikali oluşumu, tiyollerin ve aromatik gruplarının oksidasyonu, ksantin dehidrojenazın ksantin oksisaza dönüşümü, biyomoleküllerin oks.
Hipoklorit	$\text{ClO}\cdot$	Amino ve kükürt içeren grupların oksidasyonu, klorin oluşması
Radikal	$\text{R}\cdot$	Hidrojen çıkarılması, peroksil radikalleri ve diğer radikallerin oluşması, lipidlerin ve diğer biyomoleküllerin bozunması
Peroksil radikali	$\text{R}-\text{O}-\text{O}\cdot$	Hidrojen çıkarılması, radikallerin oluşumu, lipidlerin ve diğer biyomoleküllerin bozunması
Hidroperoksit	$\text{R}-\text{O}-\text{OH}$	Biyomoleküllerin oksidasyonu, biyolojik membranların bozunması
Bakır ve demir İyonları	$\text{Fe}^{+3} \text{Cu}^{+2}$	Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarıyla hidroksil radikali oluşumu

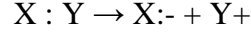
Serbest Radikaller Oluşma Şekilleri

Serbest radikaller homeostazinin bir elemanı olarak sürekli üretilirler. Serbest radikaller 3 çeşit mekanizmayla üretilirler (56, 57).

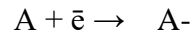
- Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak eşit yapıda bölünmesi



- Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün karmaşık bölünmesi ile serbest radikal oluşur. Karmaşık bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalır. Bu sebeple serbest radikaller değil, iyonlar oluşur.



- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi yoluyla da serbest radikaller meydana gelir.



Serbest Radikal Kaynakları

Mitokondrideki enerji üretiminin dışında serbest radikaller endojen ve eksojen kaynaklardan da oluşmaktadır. Oluşan bu serbest radikallerin hasarlarının dışında faydaları da mevcuttur. Düşük seviyedeki serbest radikallerin faydalı etkilerinden söz konusudur. Belirli düzeydeki serbest radikaller inflamasyon etkisine direnç, kanserli hücrelerin yok edilmesi ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu gibi direnç mekanizmasıyla birlikte hücre içinde kalsiyum bırakılması, tirozin aminoasidini fosfatlama işlemi ve büyüme faktörü sinyallerinin aktivasyonu gibi hücresel iletilerin aktive edilmesinde önemli görevler üstlenmektedir (58). Serbest radikallerin oluşma nedenleri Tablo 2.4'de gösterildiği gibidir.

Tablo 2.4. Serbest radikallerin oluşma nedenleri (59)

EKSOJEN KAYNAKLAR	ENDOJEN KAYNAKLAR
Antibiyotikler	Mitokondriyal elektron transport sistemi
Anestetikler	Mikrozomal sistem
Sigara dumanı	Plazma zarları
İskemi	Fagositoz olayı
Hipoksi	Peroksizomlar
İnflamasyon	Çeşitli sitolizik enzimler
Antineoplastik ajanlar	
Hava kirliliği	
Radyasyon	

Serbest Radikallerin Vücut Yapıtaşlarına Etkileri

Hücre sel lipid, protein ve DNA serbest radikallerin çeşitli seviyelerde zarar verdiği yapılardır. Endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında, peroksizomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler aracılığıyla oksijen süperoksit anyonuna çevrilmektedir. Üretilen süperoksit anyonları, SOD enzimi etkisiyle hidrojen perokside çevrilmektedir. Hidroksil radikali fenton reaksiyonu aracılığıyla Cu^{++}/Fe^{++} ile katalize olarak üretilmektedir. Ayrıca süperoksit anyonları, Fe^{+++} 'in Fe^{++} 'ye indirgenmesini hızlandırır ve Fenton tepkimesi aracılığıyla hidroksil radikali meydana gelmesini sağlamaktadır (53, 60).

• Lipidler

Lipidler üzerinde oluşan serbest radikal etkisi önemlidir bu lipid peroksidasyonu olarak isimlendirilir. Serbest radikallerle kolay bir şekilde reaksiyona giren hücre zarlarında yer alan poliansatüre yağ asitlerinin doymamış bağları peroksidasyona maruz kalabilirler (54). Fe, Cu gibi geçiş metallerinin varlığında hücre zarlarının önemli bir bileşeni olan lipidler alkoksi ve peroksi radikallerini oluşturular. Bundan dolayı Fe veya Cu tuzları lipid peroksidasyonunun hızını artırırlar. Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin yağ asitlerinden hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlamakta ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemektedir. Lipid peroksidasyonu ile oluşan membran zararı onarılamaz ve kalıcıdır. Hidroksil radikali, fosfolipaz A_2 'yi

stimüle ederek araşidonik asit salınımına yol açmaktadır. Araşidonik asitten de bir hidrojen atomu çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir. İlk etapta serbest radikaller, bir lipid karbon merkezli radikalden üretilmiş olan karbon zincirinden, hidrojen atomunu açığa çıkarmaktadır. Sonuçta karbon merkezli radikal oluşmaktadır. Bu lipid radikal, moleküler oksijen ile reaksiyona girer, linoleik asit peroksidiradikali oluşmasını sağlar ve oksidasyon zincirini başlatabilir. Üretilen peroksidiradikal, elektronları ve diğer duyarlı yağ asitlerini alarak lipid radikal ve lipid hidroperoksitleri oluşturur. Bunun yanında süperoksit lipid peroksidasyonunu bitirici etki de gösterebilir. Membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, membran geçirgenliği ve membran akışkanlığında olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Anormal Ca^{++} girişine sebep olan geçirgenlik özelliklerinin azalması hücre yapısının olumsuz anlamda değişmesine ve oksidasyonla fosforilasyonun ayrılmasını sağlamaktadır (61).

Hücre zarının akışkanlığının ve geçirgenliğinin azalması sonuç olarak zar bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Hidrolitik enzimlerin salınması ve hücre içi sindirim, lizozomal membranların yapısının bozulmasıyla oluşur. Hücre içerisinde biriken hidroperoksitler doğrudan toksik etki göstermekle beraber hassas aminoasit birikimlerini (metionin, histidin, sistein, lizin) oksidasyona uğratar ve zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktif hale getirir (62).

Peroksidiradikali, poliansatüre yağ asidi moleküllerini okside edebilmekte, radikallerin ve aldehidlerin ortaya çıkmasına neden olan hidroperoksitlerin meydana gelmesini sağlayabilmektedir. Aldehidler ise bu maddelerin yıkılması sırasında oluşmakta ve uzun ömürlü olduklarından hücre hasarının yayılmasına neden olabilmektedirler. Bu aldehidler arasında en iyi bilinenleri MDA (malondialdehit) ve 4 hidroksi alkenaldir. MDA üç veya üçten fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda meydana gelir. Lipid peroksidasyonu ile doğru orantılı gösteren MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da niceleyici bir indikatörü değildir. Membran bileşenlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olan MDA peroksidasyon neticesinde oluşur. Neticede deformasyon, iyon taşınması, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin çözülmesi gibi membran iç özellikleri değişime uğramaktadır. Lipid peroksidasyonu neticesinde oluşan kısa zincirli yağ asitleri, membran geçirgenliğini ve mikroviskozitesini önemli düzeyde olumsuz manada etkilemektedirler. Lipid hidroperoksitleri ve lipidperoksit radikalleri, serbest oksijen

radikalleri gibi aynı hücrenin birçok bileşenleriyle reaksiyona girerek, hücresel ve metabolik fonksiyonlar üzerinde zararlı etkiler meydana getirmektedirler. Bu etkiler:

1. Membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA, iç membranın yapısını bozulmasına, iyon taşınması, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi bazı özelliklerini azaltmaktadır.
2. Transmembran iyon eğimini bozarak, Ca^{++} gibi iyonlara karşı özellikli olmayan geçirgenliği arttırabilmektedirler.
3. Mitokondride oksidatif fosforilasyonu çözerler ve mikrozomal enzim aktivitelerinde değişiklik oluşturabilirler. Hücre altı organellerin (lizozom gibi) bütünlüğünün kaybolmasına yol açabilirler.
4. Ayrıca, DNA'nın nitrojen bazlarıyla da reaksiyona girebilmektedirler (53, 63).

- **Proteinler**

Proteinlerin aminoasit yapısına göre serbest radikallerin etki mekanizması değişir. Proteinlerin yapıtaşı olan aminoasit gruplarıyla serbest radikallerin tepkimeye girmesi sonucunda proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler; Aminoasitlerin modifikasyonu, proteinlerin fragmentasyonu ve proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalar olarak sınıflandırılır (64).

Polipeptit zincirlerinde fragmentasyon sonucunda oksidatif modifikasyon yolu ile sitozolik nötral proteazlar kritik enzimlerin yıkımını gerçekleştirebilirler. Aromatik aminoasitler de oksidatif ataklara çok hassas moleküllerdir. Aminoasit yapısında değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize duyarlılığa sebep olur. Radikaller, membran proteinleri ile tepkimeye girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin işlevlerinde azalmaya sebebiyet verebilirler (65). IgG ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları serbest radikallerin tepkimesiyle hasara uğrar. Serbest radikallerden önemli oranda zarar gören bir diğer yapı da hem proteinleridir. Oksihemoglobinin O_2 veya H_2O_2 ile tepkimeye girmesi methemoglobin meydana gelmesine neden olur (54, 66).

- **Karbonhidratlar**

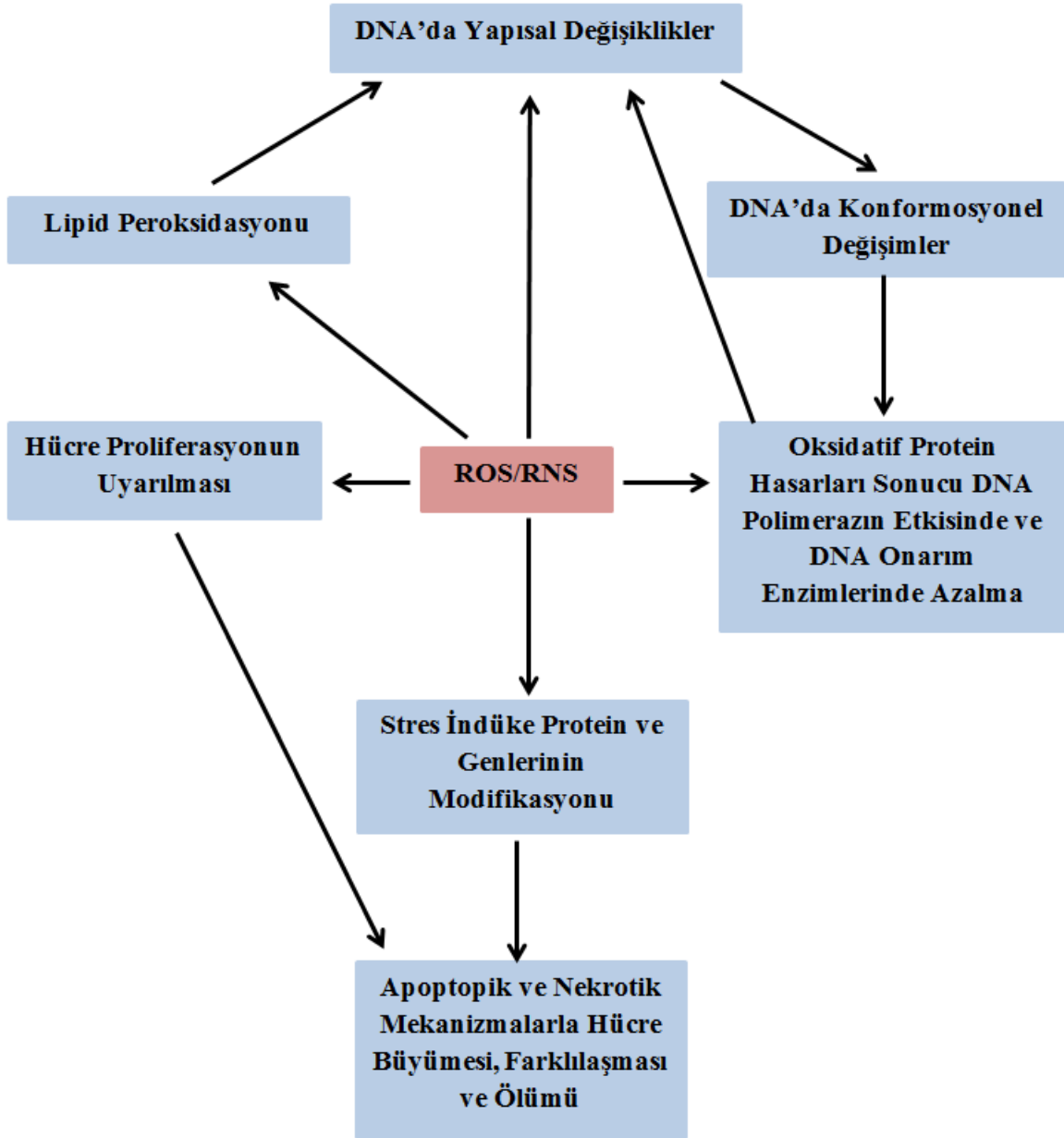
Karbonhidratların yapıtaşı olan monosakkaritlerin oksidasyonu neticesinde hidrojen peroksit (H_2O_2) ve okzoaldehitler oluşurlar. Bunlar diyabet ve sigara alışkanlıkları ile ilgili kronik hastalıklar gibi patolojik durumlarda öne çıkarlar (67). İnflamatuvar eklem hastalıklarında synovial sıvıya geçen polimorfonükleer lökositlerden (PML) ekstrasellüler sıvıya salınan H_2O_2 ve O_2 buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalarlar. Hyalüronik asit gözün vitröz sıvısında bol miktarda bulunmakla beraber hyalüronik asidin oksidatif hasarı sonucunda katarakt hastalığı oluşur (56).

- **DNA**

Nükleik asitler, serbest radikallere bağlı değişikliklere duyarlıdır. Serbest radikallerin DNA hasarına sebep olması gen değişimlerine ve hücrenin ölümüne neden olur. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolay bir şekilde tepkimeye girer. Membranlardan kolay bir şekilde transfer olabilen hidrojen peroksit DNA ile reaksiyona girerek ve hücresel bozulmalara hatta ölümüne neden olur. ROS ve RNS ile meydana gelen DNA hasarlarının çok az bir kısmı doğal yollarla oluşmaktadır (43). Reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerinin vücuda etkisi Şekil 2.3’de verilmiştir (71). DNA hasarlarında endojen reaksiyonlar oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon olarak adlandırılırlar. Nitrik oksid veya nitrojen dioksit (NO_2), peroksinitrit ($ONOO^-$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve nitrik asid (HNO_3) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler (68, 73).

Baz ve şeker radikallerinin tepkimeye girmeleri; farklı baz ve şekerler, kontrolsüz baz sıralanması, zincir kırılmaları ve DNA-protein çapraz bağlarını oluştururlar. Gen mutasyonu, kanserojen etki ve yaşlanma sebepleri arasında yer alan bu tip hasarlara oksidatif DNA hasarı da denir (74).

DNA hasarı oksijen radikallerinin oksidatif yarılanmasıyla oluşabilmektedir. DNA zincirlerinin kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve hücresel ölüm meydana gelebilir. 8hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) miktarı oksidatif DNA hasarının oranıyla doğru orantılıdır. 8-OHdG miktarı yenidoğan ve hipokside kalan bebeklerde yüksek olduğu gözlenmiştir (60).



Şekil 2.3. Reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerinin vücuda etkisi (71)

2.2.3. Antioksidanlar

Serbest radikallerin üretimiyle oluşabilecek hücre içi hasarı önlemek için, vücutta savunma mekanizmaları oluşur ve bunlara antioksidanlar denir. Hücrede normal metabolizma ya da eksojen nedenlerle meydana gelen serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengeli ilişkinin serbest radikaller lehine dönüşmesi durumunda “oksidatif stres” meydana gelir (72).

Zar yapısındaki çok doymamış yağ asitlerinin oksidasyonlarının engellenmesi antioksidanların ilk tespit edilen etkileri olmuştur. Günümüzde lipitleri, proteinleri, nükleik asitleri ve diğer hedef makromolekülleri savunma mekanizmalarının antioksidanlarda olduğu ispatlanmıştır. Serbest radikalleri etkisizleştirmek için karşılıklı etkileşim halinde olan antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olabilirler. Antioksidan tipleri, gıda kökenli antioksidanlar (C vitamini, E vitamini, karotenoidler, lipoik asit gibi), antioksidan enzimler (SOD, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz gibi), metal bağlayıcı proteinler (ferritin, albümin, laktoferrin, serüloplazmin gibi) ve bitkilerde daha genel bulunan antioksidan fitonutrientlerdir (Tablo 2.5) (74).

Antioksidanların sınıflandırılması endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olarak yapılabildiği gibi enzim ve enzim olmayan antioksidanlar şeklinde de tablolaştırılabilir. Organizmalarda yer alan antioksidan mekanizmasında yer alan başlıca öğeler ise; enzimler, metal iyonlarını bağlayan protein yapılar ve suda ve yağda çözünme özelliği olan radikal bağlayıcılardır (73).

Tablo 2.5. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar (74)

Enzimatik antioksidanlar	Enzimatik olmayan antioksidanlar
Süperoksit dismutaz	Vitamin E
Se bağımlı glutatyon peroksidaz	Vitamin C
Glutatyon- S- transferaz	Glutatyon
Katalaz	Flavonoidler
Paraoksonaz	Bütillenmiş hidroksianizol
Epoksit Hidrolaz	Bütillenmiş hidroksitoluen
UDP-Glukoronil transferaz	Ebselen
Sülfonil transferaz	B Karoten
Glutatyon reduktaz	Urat
Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz	Seruloplazmin
6-fosfoglukanot dehidrojenaz	Transferrin
İzositrat dehidrojenaz	Albümin
Konjugat taşıyıcılar	Haptoglobin
NADPH-Kinon oksidoreduktaz	Likopen
	Metallotiyonein
	Bilirubin
	Ubikinon
	Deferoksamin
	Melatonin
	Sistein
	Ferritin
	Mannitol
	Oksipürinol
	Probukol

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler (75);

1. Temizleme (Scavenging): Enzimler aracılığıyla oksidanlar reaksiyonlar sonucunda zayıf bir moleküle dönüştürülür. Antioksidan sistemler ve küçük moleküller bu şekilde etki ederler.
2. Baskılama (Quencher): Vitaminler ve flavonoidler tarafından oksidanlara bir hidrojen aktarılarak oksidanları etkisiz hale getirme şeklinde olan sistemdir.
3. Tamirat: Oksidatif hasar sonrası moleküllerin onarımı veya ortadan kaldırılması.
4. Zincir koparma: Radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi metal iyonlarının bağlanması ile oluşur. Hemoglobinin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etkiye sahiptirler.

Tablo 2.6. Hidrofilik ve lipofilik antioksidanlar (76)

Antioksidan	Faz	Etki
Süperoksit dismutaz (SOD)	Hidrofilik	O ₂ 'nin H ₂ O ₂ 'ye dismutasyonu
Katalaz (CAT)	Hidrofilik	H ₂ O ₂ 'nin H ₂ O ve O ₂ 'ye dismutasyonu
Glutasyon peroksidaz (GPX)	Hidrofilik ya da lipofilik	R-OOH'ın R-OH'a indirgenmesi
Glutasyon reduktaz (GSH-Rd)	Hidrofilik	Okside glutasyonun indirgenmesi
Glutasyon S-Transferaz (GST)	Hidrofilik	R-OH'nin GSH ile konjugasyonu
Metallotieninler	Hidrofilik	Geçiş metalleriyle nötralizasyon
Tiyoredoksinler	Hidrofilik	R-S-S-R'nin R-SH'a indirgenmesi
Glutasyon	Hidrofilik	R-S-S-R'nin R-SH'a indirgenmesi Serbest radikal temizleyicisi GPX ve GST'nin kofaktörü
Ubikinon	Lipofilik	Serbest radikal temizleyicisi Lipid peroksidasyonu korunması
Askorbik asit	Hidrofilik	Serbest radikal temizleyicisi Tokoferol kazanımı Enzimlerin redükte formdakalması
Karotenler	Lipofilik	Serbest radikal temizleyicisi O ₂ baskılayıcı
Tokoferol	Lipofilik	Selenyum absorpsiyonunu artırır Serbest radikal temizleyicisi Lipid peroksidasyonu korunması
Selenyum	Amfifilik	Tiyoredoksin, GPX yapıtaşı

SOD: Süperoksit dismutaz, CAT: Katalaz, GPX: Glutasyon peroksidaz, GSH-Rd: Glutasyon reduktaz, GST: Glutasyon transferaz

2.3. D Vitamini

2.3.1. D Vitamini Tarihi

Geçmişte önemli bir sağlık sorunu olan raşitizm hastalığının ilk bilimsel tanımını Glisson 1650'de yapmıştır. Raşitizm hastalığı 20. yüzyıl başlarında Avrupa ve Kuzey Amerika'da %80'den fazla çocuğu etkilemiş ve çeşitli derecelerde iskelet sorunlarıyla mücadele etmek zorunda bırakmıştır. Raşitizm'in bu derece önemli ve genel bir sağlık sorunu olması ile D vitamini keşfinin başlangıcında önemli rol oynamaktadır. Bu süreçte bilim adamları çeşitli zamanlarda güneş ışığı veya beslenme ile ilişkili bir takım faktörlerin bu hastalığı önlemede rolleri olduğunu söyleseler de bu durum ancak 1930'lu yıllardan sonra net bir şekilde ortaya konmaya başlanmıştır. 1822'de Sniadecki, Varşova'nın iç bölgelerinde yaşayan çocuklarda raşitizm insidansının hemen yanı başındaki kırsal alanda yaşayanlardan daha fazla olduğunu gözlemlemiş ve raşitizm'e bağlı iskelet anomalilerinin ve büyüme geriliğinin önlenmesinde güneş ışığının önemini vurgulamıştır. 1889 yılında Palm benzer bir açıdan olaya yaklaşarak, Londra ve Glasgow'lu çocukları ciddi şekilde etkileyen bu hastalıktan, çok daha kötü şartlarda büyüyen Hindistan ve Asyalı çocukların etkilenmediğini ve güneşin önleyici ve tedavi edici etkisi olabileceğini belirtmiştir. 1824 yılında Schütte, raşitizm ve osteomalazi tedavisinde morina balığı karaciğerinden ekstrakte edilen yağ önererek olayın bir diğer yönünü vurgulamıştır (78-81).

1906 yılında Hopkins diyetindeki bir takım esansiyel faktörlerin raşitizm ve skorbut gibi hastalıkları önlediği öngörüsünde bulunmuştur. Funk ise benzer bir yaklaşımı biraz ilerletmiş, diyetinde normal metabolizma için esansiyel bir takım maddelerin eksikliğinin veya yeterli miktarda olmayışının raşitizm'in ortaya çıkmasında rolü olabileceğini ve bu maddelerin anne sütünde, balık karaciğeri yağında varken, sterilize sütte ve tahıl ürünlerinde olmadığını belirtmiştir. 1919 yılında Huldschinsky, cıva lambası ışığı ile raşitik çocuklarda iyileşme tanımlamıştır. 1921'de Hess ve Unger raşitik çocukları 13 hastane çatısına çıkartarak güneş ışığına maruz bıraktıklarında tedavilerinde dramatik iyileşmeler gözlediklerini bildirmişlerdir (78, 79, 81).

1928 yılında Prof. Adolf Windaus kolesterol yapıda (ergosterol) D vitamini prekürsörlerinin bulunduğunu ve bunların güneş ışığı ile D vitaminine dönüştüğünü ispat etmesi ile Nobel ödülüne layık görülmüştür. 1931 yılında Windaus ve ark. Reerink

ve ark. ile aynı zamanlarda kolesterol yapıdaki D vitaminin ultraviyole etkisi sonrası dönüştüğü ürünü saf hale getirerek kristalize etmeyi başarmışlar Vitamin D₂ veya kalsiferol olarak adlandırmışlardır. Bu molekülü 2 aylık süreçte 0.01 µg/gün dozda raşitik sıçanlara verdiklerinde tam iyileşme elde sağlanmıştır. 1937 yılında Vitamin D₃ veya kolekalsiferol'ün yapısının tam manasıyla keşfi Windaus ve ark. tarafından domuz derisinden izole edip tanımladıkları 7 dehidrokolesterolün UV'ye maruziyeti sonucunda meydana gelmiştir (79, 81).

Bütün bu buluşların neticesinde özellikle vitamin D₂'nin ergesterolden kolayca sentezlenmesi ve gıdaların vitamin D içeriğinin artırılması sonucu kısa sürede raşitizmi toplumsal hastalık olarak adlandırılmasından çıkarmıştır. Ancak bu durum bir taraftan da D vitamininin pek çok gıdaya hatta biraya bile katılması ile sonuçlanmış ve 1950'de Büyük Britanya da infantlarda patlak veren hiperkalsemi vakalarının ortaya çıkmasında gıdalara aşırı D vitamin takviyesini akla getirmiştir. Her ne kadar bu durum ispatlanmasa da gıdalara D vitamini katılmasının durdurulması ile sonuçlanmıştır. Sonrasında pek çok Avrupa ülkesi de bu yasağı desteklemiş ve sadece margarine ilave edilmesi ile D vitamini eksikliği giderilmeye çalışılmıştır. Günümüzde birçok Avrupa ülkesinde sadece kahvaltılık tahıllar D vitamini ile zenginleştirilmektedir. 1990'lı yıllardan beri Finlandiya ve İsveç'te süte katılarak verilmeye başlanmıştır. Ancak Avrupa'nın bütününe bakıldığında farklı politikalar izlendiği görülmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde ise özellikle süt ve süt ürünlerinin bu alanda kullanıldığı bildirilmektedir (82).

2.3.2. D Vitamini Metabolizması

Vitamin D'nin keşfedilmiş 2 çeşidi bulunmaktadır; D₂ Vitamini (Ergokalsiferol) ve D₃ vitamini (Kolekalsiferol). D₃ Vitamini (Kolekalsiferol) dışarıdan alınır ya da ciltte UV radyasyon etkisiyle 7-dehidrokolesterolde sentezlenir. Ciltteki D vitamini sentezi UV radyasyonun yoğunluğuna göre değişir. UV radyasyon yoğunluğu, mevsim ve yaşanan yükseklik ile ilişkilidir (83).

Kanda bulunan D vitamini bağlayıcı protein (DBP) aracılığıyla D vitamini karaciğere transfer olur. D vitamini, bir sitokrom p450 enzimi olan 25-hidroksilazlarla (CYP2R1, CYP2D11 ve CYP2D25) C-25 bölgesinden hidroksile edilir ve karaciğerde 25-hidroksivitamin D (25(OH)D) meydana gelir. 25(OH)D, D vitamininin genelde

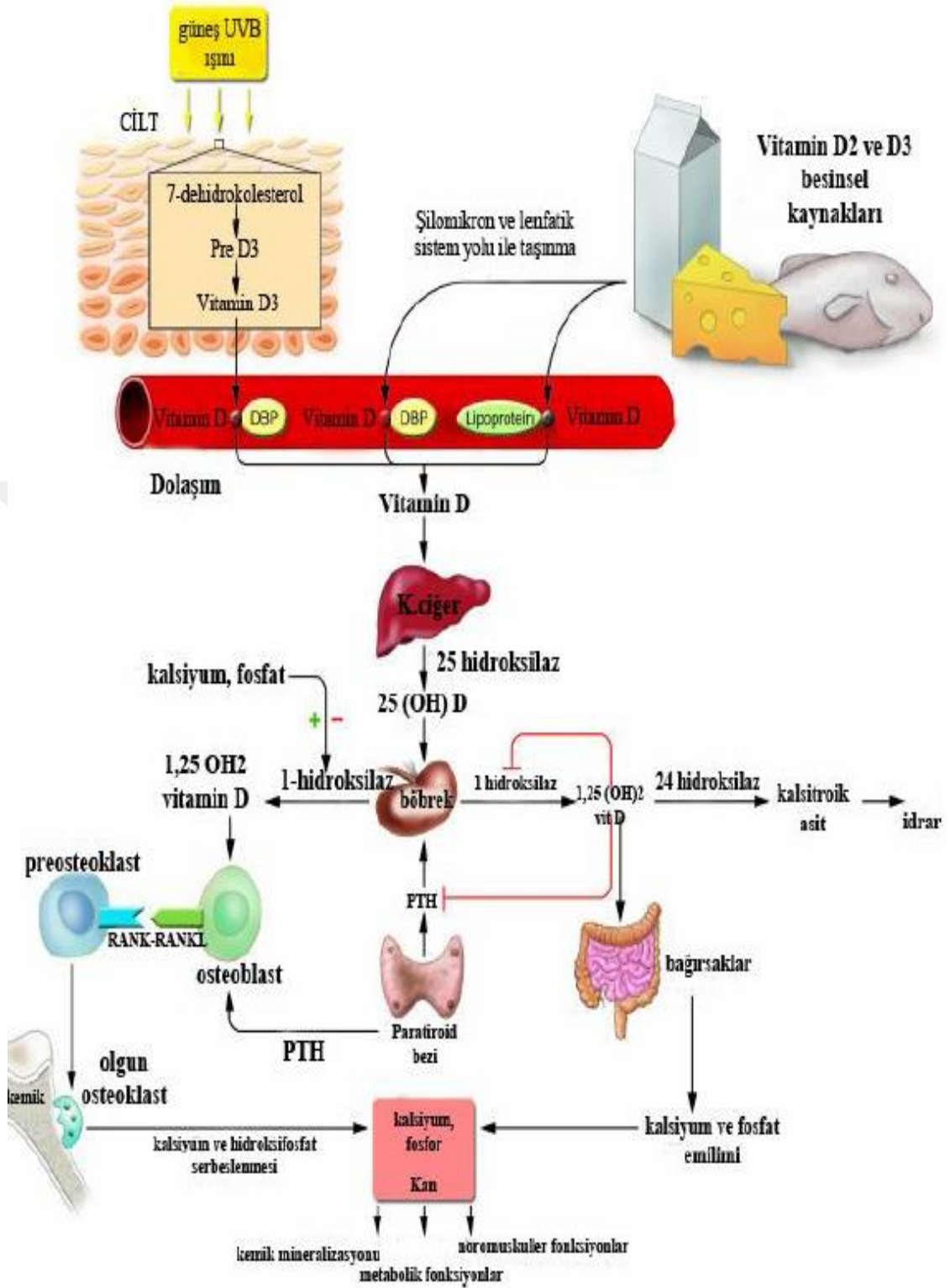
kanda bulunan şeklidir ve DBP ile böbreğe transfer olur. Böbrekte yer alan proksimal renal tübülde 1 α -hidroksilaz enzimi ile C-1 bölgesinden hidroksile edilir ve endokrin olarak aktif formu olan 1,25- dihidroksivitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃) meydana gelir (84).

Böbrek 1 α -hidroksilaz enzimi 3 faktörden etkilenir (84, 85):

1. Parathormon (PTH)
2. Serum kalsiyum ve fosfor düzeyleri
3. Fibroblast büyüme faktörü 23 (FGF23)

C1 α hidroksilasyonu esas olarak böbrek proksimal tübülünde gerçekleşir ancak bunun dışında plasenta, monosit-makrofajlarda (86, 87) gastrointestinal sistem, cilt, damarlar, memeli epitelyum hücreleri ve osteoblast-osteoklastlarda da saptanmıştır (88, 89). Böbrek dışı 1,25(OH)₂D₃'nin dokuya özgü bir şekilde fonksiyon gösterdiği ve hücrel proliferasyon ve diferansiyasyon, hormon üretimi ve immun fonksiyonları düzenlediği düşünülmektedir (90). 1,25(OH)₂D₃'in böbrek dışı üretimi, farklı mekanizmalarla kontrol altında tutulmaktadır. Örneğin makrofajlardaki üretim, PTH düzeyinden etkilenmez, interferon γ ve lipopolisakkaritler gibi uyarıcılarla direkt olarak üretimi artmaktadır (91).

Başka bir mitokondrial P450 enzimi olan 24-hidroksilaz (CYP24), hem 25(OH)D₃'ü, hem de 1,25(OH)₂D₃'ü hidroksile eder. 24-hidroksilaz enzimi, esas olarak 1,25(OH)₂D₃'ün katabolizmasını hızlandırıp hedef dokularda da 1,25(OH)₂D₃'ün miktarını kısıtlar. Sonuç olarak 24,25(OH)₂D₃ oluşur. Yani 24-hidroksilaz enziminin esas fonksiyonu D vitamininin inaktivasyonudur (92).



Şekil 2.4. D vitamini metabolizması (93)

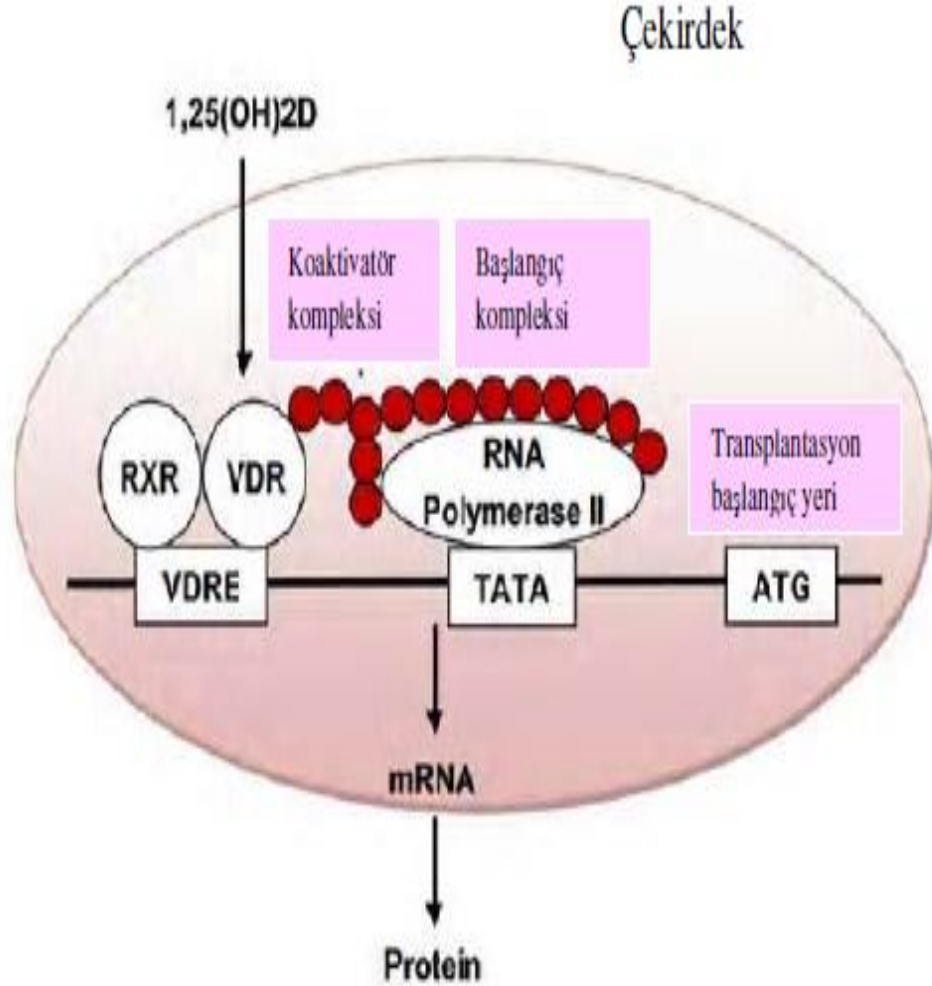
2.3.3. D Vitaminin Fizyolojik Etkileri

Kan kalsiyum ve fosfat dengesinin düzenlenmesinde 1,25(OH)₂D barsak, kemik, böbrek ya da paratiroid bezler üzerindeki etkisi aracılığıyla önemli rol oynar. 1,25(OH)₂D barsaklarda kalsiyum emilimini öncelikle duodenum'dan, fosfat emilimini ise jejunum ve ileum'dan stimüle eder. DBP'e bağlı olarak gelen 1,25(OH)₂D ince barsaklarda ayrılarak serbestleşir. Serbest form hücreler tarafından alınarak spesifik nükleer reseptör proteinine taşınır. Ca⁺²'un fırçalı kenar hücre sitoplazmasına girişine aracılık eden CaT1 (epitelyal kalsiyum transporter) sentezi %90 D vitaminine bağımlı iken, hücre içinde difüzyonunu sağlayan sitozolik kalsiyum bağlayıcı protein olan kalbindin-D9k ise tamamıyla D vitamini bağımlıdır. Aşırı kalsiyum içeren diyet 1,25(OH)₂D düzeylerini azaltarak CaT1 ve kalbindin-D9k ekspresyonunu azaltır. Yüksek 1,25(OH)₂D düzeyleri kemik iliğinde hem monositik kök hücrelerin osteoklastlara farklılaşmasına neden olarak, hem de osteoblastik aktivite artışı yoluyla, sitokin ve diğer faktörlerin üretimindeki artış aracılığıyla osteoklastik aktiviteyi artırarak kemik rezorpsiyonunu artırır. Osteoblast artışı ayrıca kan alkalin fosfataz ve osteokalsin düzeylerinin de artmasına neden olur. Paratiroid bezlere direkt etki ederek paratiroid hormon (PTH) sentez ve sekresyonunu inhibe eder. Ayrıca direkt transkripsiyonel mekanizma ile paratiroid bezlerde, kalsiyum duyarlı reseptörlerin konsantrasyonunu artırarak, bezi Ca⁺² inhibisyonuna duyarlı hale getirir (94).

2.3.4. D Vitamini Reseptörü

Genel olarak peptid hormonlar, kendisi için özgün reseptörler içeren hedef hücrenin davranışını etkilerler. Bu etkileşim, hedef hücrede gen ekspresyonundaki değişikliklerden bağımsız olarak, biyokimyasal bir takım değişiklikler gerçekleşmesi ile sonuçlanır. Ancak steroid hormon ve reseptörlerinden oluşan bir grup, esas etkilerini hedef genlerin ekspresyonunu düzenleyerek yapmaktadır. Bu hormonlar kolesterolden sentezlenen progesteron, 17β-östradiol, testosteron, kortizol, aldosteron ve 1,25(OH)₂D'den oluşmaktadır. Buna ilaveten, yapısal olarak steroid hormonlardan farklı olmasına rağmen, reseptörlerinin yapısal ve fonksiyonel benzerlik göstermesinden dolayı, steroid hormon benzeri olarak adlandırılan, retinoik asit ve tiroid hormonunu da içermektedir. Steroid hormon reseptörleri sitoplazma (glukokortikoidler vb) veya çekirdek içerisinde (östradiol, progesteron, 1,25(OH)₂D vb.) serbest bulunur. Etki

gösterebilmeleri için hücre içi reseptörlerine bağlanmaları gerekmektedir. Bunu lipofilik özelliklerinden faydalanarak yaparlar. Steroid hormon reseptörlerinin 3 fonksiyonel kısmı bulunmaktadır. C ucunda steroid bağlayıcı kısım, ortada DNA bağlayıcı kısım ve N ucunda da transkripsiyonel aktivasyon kısmı bulunmaktadır (95).



Şekil 2.5. D vitamini reseptörü (96)

2.3.5. D Vitamini Ölçüm Yöntemleri

Vitamin D₂ ve D₃'ün 30'dan fazla metaboliti bulunmakla birlikte klinik olarak 25(OH)D ile 1,25(OH)₂D'in ölçümü değerlidir. Organizmada D vitamini kompozisyonunu en doğru şekilde gösteren ise 25(OH)D'dir. Çünkü yarılanma ömrü 1,25(OH)₂D'den (5–8 saat) oldukça uzun olup 2–3 hafta kadardır. Ayrıca güneş ışığı ve

diyetle sınırlı dalgalanma göstermesi, kan konsantrasyonunun çok daha fazla olması ve ölçüm kolaylığı diğer avantajlarındandır. Günümüzde referans yöntem kütle spektrometrisi olmakla birlikte, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), Radyoimmünoassay, Elektrokemilüminesans immünoassay gibi ölçüm yöntemleri de sıklıkla kullanılmaktadır (97, 98)

2.3.6. D Vitamini Referans Aralıkları

Yetişkin insanlarda yapılan çalışmalarda serum 25(OH)D vitamini seviyesi 15 ng/ml (37,5 nmol/L) altına indiğinde parathormon seviyesinin arttığı gözlenmiştir. Böylece yetişkinlerde eşik değer 15 ng/ml olarak varsayılmaktadır (99). Son yıllarda çocuklarda Lawson Wilkins Pediatrik Endokrinoloji Derneği'nin İlaç ve Teröpatikler Komitesi tarafından düzenlenen 25(OH) vitamin D düzeyine göre değerlendirilmesi tavsiye edilmektedir (Tablo 2.7) (100).

Tablo 2.7. 25(OH)D vitamin düzeyine göre D vitamin durumu (100)

Vitamin D durumu	25(OH)D düzeyi (ng/ml)	25(OH)D düzeyi (nmol/l)
Ağır eksiklik	≤5	≤12,5
Eksiklik	≤15	≤37,5
Yetersizlik	15-20	37,5-50
Yeterlilik	20-100	50-250
Fazlalık	>100	>250
İntoksikasyon	>150	>375

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

Çalışmamıza Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'nın 12.09.2018 tarihli 240 protokol kodlu kararı ile etik kurul onayı alınmıştır. Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyon Başkanlığı 17049 Protokol numarası ile Projemize destek kararı alınmıştır. Prospektif çalışmamızda hasta grubu, Mehmet Akif İnan Eğitim Araştırma Hastanesi Fizik Tedavi Polikliniği'ne başvuran ve ARC sınıflamasına göre fibromiyalji teşhisi konmuş D vitamini eksikliği bulunan (<30 ng/ml) 25-45 yaş arası 27 kadın hastadan oluşmaktadır. Kontrol grubu ise herhangi bir hastalığı bulunmayan 27 sağlıklı kadından oluşmaktadır.

Hasta grubunun çalışmaya dâhil edilme kriterleri;

1. 25-45 yaş arası olmak
2. Kadın olmak
3. Fibromiyalji teşhisi konmuş olmak
4. D vitamini seviyesi 30 ng/ml'den az olması

Hasta grubunun çalışmaya dâhil edilmeme kriterleri;

1. Sigara kullanmak
2. Alkol almak
3. Kronik rahatsızlığı olmak ve buna bağlı ilaç kullanmak
4. Gebe olmak

Hasta grubunun çalışmadan dışlanma kriterleri;

1. Verilen D vitamini takviyesini istenen miktar ve zamanda kullanmamak
2. D vitamini seviyesinin 30 ng/ml ve bu değerden yukarıya çıkmamak
3. D vitamini takviyesi aldığı süreç içerisinde başka ilaçlar kullanmak

Kontrol grubunun dâhil edilme kriterleri

1. 25-45 yaş arası olmak

2. Kadın olmak
3. D vitamini seviyesinin 30 ng/ml'den fazla olmak
4. Herhangi bir kronik veya akut rahatsızlığın olmaması
5. Kronik rahatsızlığa bağlı ilaç kullanmamak

Araştırmamıza Mehmet Akif İnan Eğitim Araştırma Hastanesi Fizik Tedavi polikliniğinde ACR kriterlerine göre fibromiyalji tanısı konulan ve rutin tetkikler için kanları alınan ve tetkikler sonucunda D vitamini düzeyi 30 ng/ml'den **düşük** bulunan 25-45 yaş arası yaklaşık 27 kadın hasta dâhil edilmiştir. Hastalardan rutin D vitamini tedavisi almadan önce ve 2 aylık D Vitamini tedavisi bittikten hemen sonra (hastalarımıza 8 hafta boyunca haftada 50000 µl oral D vitamini replasman tedavisi uygulanır) rutin olarak alınan ve rutin tetkikler çalışıldıktan sonra artan serum örnekleri Oksidatif stres parametreleri çalışılmak üzere -86°C'de saklanmıştır. Ayrıca Mehmet Akif İnan Eğitim Araştırma Hastanesi Fizik Tedavi polikliniğine başvuran ve rutin tetkikler sonucunda herhangi bir hastalığı olmadığı belirlenen ve yapılan kan tetkikleri sonucunda serum D vitamin düzeyi 30 ng/ml'den **yüksek** olan 27 sağlıklı kadın kontrol grubu olarak çalışmaya dâhil edilmiştir. Kontrol grubunda yer alan 27 sağlıklı kadından sadece 1 defaya mahsus rutin tetkikler yapılmak üzere kan örneği alınmıştır. Yeterli sayıda kan örneği toplandıktan sonra Harran Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında oksidatif stres parametreleri çalışılmıştır.

3.2. Kan Örnekleri

Çalışma grubuna dahil edilen hastalardan ve kontrol grubu için gönüllü katılımcılardan kan örnekleri alındı, bir saat içinde 3200 rpm de 10 dk santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Hemoliz olan serum örnekleri çalışmaya dâhil edilmedi. Alınan serum örnekleri (yaklaşık 5 ml) eppendorf tüplere konularak analizler yapılmaya kadar -86 °C'de derin dondurucuda saklandı. Harran Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında serum örneklerinin oda sıcaklığında ileri protein oksidasyon ürünleri (AOPP), 8-hidroksi 2-deoksi guanozin (8OHdG), malondialdehit (MDA), protein karbonil (PC) ve 8-izoprostan düzeyleri ölçüldü.

3.3. 8-OHdG (8-Hidroksideoksiguanozin) Ölçüm Yöntemi

Fine test markalı EU2548 katalog nolu kitle 8-OHdG çalışıldı. Derin dondurucudan -86 °C'de saklanan serum örnekleri çıkartıldı. Yaklaşık 2 saat oda sıcaklığında bekletildi. Hazır hale gelen serum örnekleri sırasıyla ve kaydedilerek 96 kuyucuklu mikroplatete yerleştirildi. Ölçüm için alınan kit kullanımdan önce 20 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

3.3.1. 8-OHdG Kit Hazırlama Aşaması

Kit hazırlanırken ilk başta yıkama solüsyonu hazırlandı. 30 ml yıkama solüsyonu 750 ml distile su içerisinde karıştırıldı. Kullanıma kadar 4 °C'de saklandı. Kullanım aşamasında oda sıcaklığında tekrar bekletildi.

İkinci aşamada standart solüsyon hazırlandı. 100 ng/ml standart solüsyon hazırlamak için 1 ml standart dilüsyon standart tüpe yerleştirildi ve 10 dakika oda sıcaklığında düzgün bir şekilde karıştırıldı. Sonrasında 6 adet eppendorf tüp üzerlerine sırasıyla 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56 yazılarak boş bir şekilde yerleştirildi. 0,3 ml standart dilüsyon tamponu her bir eppendorf tüpe eklendi. Daha önce hazırlamış olduğumuz 100 ng/ml standart solüsyondan 0,3 ml alıp üzerinde 50 ng/ml yazan birinci tüpe yerleştirildi ve düzgün bir şekilde karıştırıldı. Yine aynı şekilde birinci tüpten alınan 0,3 ml ikinci tüpe eklendi ve düzgün bir şekilde karıştırıldı. Bu şekilde son tüpe kadar devam edildi. Sonuç olarak standart solüsyonlar hazırlandı.

Üçüncü aşamada antikor çalışma solüsyonu hazırlandı. İlk başta çalışmada kullanılacak toplam solüsyon miktarı hesaplandı. Daha sonra antikor çalışma tamponu 99/1 biotin etiketli antikor oranında solüsyon hazırlandı.

Dördüncü aşamada HRP- Streptavidin Conjugate (SABC) çalışma solüsyonu hazırlandı. Antikor çalışma solüsyonunda olduğu gibi toplamda çalışılacak solüsyon miktarı belirlendi ve yine aynı oranda (1 µl SABC/99 µl SABC dilüsyon tamponu) SABC çalışma tamponu hazırlandı.

3.3.2. 8-OHdG Ölçüm İşlemi

Standart solüsyon, kan örneklerini ve blank örneğini 96 kuyucuklu mikrolpaka kuyucuklarına sırasıyla pipetlendi. 50 µl standart solüsyon her kuyucuğa eklendi. Ardından 50 µl Antikor çalışma solüsyonu her bir kuyucuğa yerleştirilerek 96 kuyucuklu mikrolpakanın üstü kapatıldı ve yavaş bir şekilde çalkalandıktan sonra 45 dakika 37 °C’de inkübe edildi.

İnkübasyon işlemi bittikten sonra 96 kuyucuklu mikrolpakanın üstü açıldıktan sonra yıkama solüsyonuyla her kuyucuk 3 defa yıkandı. Bu işlem sırasında yıkama solüsyonları yaklaşık 1 dakika kuyucuklarda kaldı. Daha sonra yıkama solüsyonu aspire edildi. Aspirasyon sonrasında 100 µl SABC çalışma solüsyonu her kuyucuğa eklendi. 96 kuyucuklu mikrolpakanın üstü kapatıldı ve 30 dakika 37 °C’de inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 96 kuyucuklu mikrolpakanın üstü açılıp 5 defa yıkama solüsyonu ile her kuyucuk yıkandı. Yıkama solüsyonu yıkama işlemi sırasında her kuyucukta yaklaşık 1-2 dakika kaldı.

Yıkama işleminin akabinde 90 µl TMB solüsyonu her kuyucuğa yerleştirildi. 96 kuyucuklu mikrolpakanın üstü kapatıldı ve 37 °C’de 15-20 dakika karanlık yerde inkübe edildi. İnkübasyon sonunda her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi. Kuyucukların rengi sarıya döndükten sonra 96 kuyucuklu mikrolpaka 450 nm dalga boyunda okundu ve sonuçları alındı.

3.4. İleri Düzey Protein Oksidasyon Ürünleri (AOPP) Ölçüm Yöntemi

AOPP parametresi YL Biont markalı YLA0085HU katalog nolu Eliza kit ile çalışıldı. Kan serum örnekleri -86 °C’deki derin dondurucudan çıkartıldı. Eliza kit çalışılmadan önce oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Kan serum örnekleri kitin 96 kuyucuklu mikrolpaka kısmına yerleştirildi ve sırasıyla kaydedildi.

3.4.1. AOPP Eliza Kit Hazırlama Aşaması

Kit hazırlanma aşamasında öncelikle standart stok solüsyonu seyreltilerek hazırlandı. 6 adet eppendorf tüp alınarak üzerlerine sırasıyla 24, 12, 6, 3, 1.5 yazıldı. 48 ng /ml konsantrasyonlu stok standart tüpünden 120 µl ölçüsünde standart solüsyon

alınıp içerisinde 120 µl standart seyreltici 24 ng/ml yazılı tüpe yerleştirildi. Daha sonra tüp karıştırıldı. Birinci tüpten alınan 120 µl solüsyon ikinci tüpe yerleştirildi ve karıştırıldı. Bu işlem son tüpe kadar devam etti. Böylelikle standart solüsyonlar hazırlandı.

Blank solüsyonu, kromojen A solüsyonu, kromojen B solüsyonu ve stop solüsyonu hazırlandı.

Kit içerisindeki 96 kuyucuklu mikroplatete sıralaması kaydedilerek blank örneği ve eppendorf tüplerdeki standart solüsyon 50 µl yerleştirildi. Daha sonrasında 40 µl kan örneği yine kaydedilerek 96 kuyucuklu mikrolaka üzerine yerleştirildi. Kan örneklerinin üzerine 10 µl AOPP antikor solüsyonu ve 50 µl streptavidin- HRP eklendi. Daha sonra 96 kuyucuklu mikrolakanın üzeri kapatıldı ve yavaşça çalkalandıktan sonra 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.

Bekleme süresince 30/1000 oranında yıkama konsantrasyonu distile su ile seyreltilerek yıkama solüsyonu hazırlandı.

İnkübasyon sonrasında 96 kuyucuklu mikrolakanın üzerindeki membran dikkatlice çıkarıldı ve kuyucuklara yıkama solüsyonu eklendi. Daha sonra kuyucuklardaki sıvı drene edildi. Bu işlem 5 defa tekrarlandı.

Yıkama solüsyonu ile her kuyucuk yıkandıktan sonra tüm kuyucuklara 50 µl kromojen A solüsyonu eklendi ve sonrasında yine her bir kuyucuğa 50 µl kromojen B solüsyonu eklendi. Yavaşça çalkalandıktan sonra 10 dakika 37 °C'de karanlık ortamda inkübe edildi.

İnkübasyon sonrasında her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi ve anında her bir kuyucukta renk sarıya döndü.

Son olarak mikrolaka ölçüm cihazında 450 nm dalga boyunda ortalama 10 dakika süreyle sarı renge dönen 96 kuyucuklu mikrolaka ölçüldü ve sonuçlar kaydedildi.

3.5. 8-izoprostan Ölçüm Yöntemi

8- izoprostan parametresi YL biont markalı YLA3738HU katalog nolu Eliza kit ile çalışılmıştır. Kan serum örnekleri -86 °C'deki derin dondurucudan çıkartıldı. Eliza kit çalışılmadan önce oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Kan serum örnekleri 96 kuyucuklu mikropolanın kuyucuklarına eklendi ve sırasıyla kaydedildi.

3.5.1. 8-izoprostan Eliza Kit Hazırlama Aşaması

Kit hazırlanma aşamasında öncelikle standart stok solüsyonu seyreltilerek hazırlandı. 6 adet eppendorf tüp alınarak üzerlerine sırasıyla 24, 12, 6, 3, 1.5 yazıldı. 48 ng/ml konsantrasyonlu stok standart tüpünden 120 µl ölçüsünde standart solüsyonlar alınıp içerisinde 120 µl standart seyreltici 24 ng/ml yazılı tüpe yerleştirildi. Daha sonra tüp karıştırıldı. Birinci tüpten alınan 120 µl solüsyon ikinci tüpe yerleştirildi ve karıştırıldı. Bu işlem son tüpe kadar devam etti. Böylelikle standart solüsyon hazırlandı.

Blank solüsyonu, kromojen A solüsyonu, kromojen B solüsyonu ve stop solüsyonu hazırlandı.

Kit içerisindeki 96 kuyucuklu mikropolakaya sıralaması kaydedilerek 50 µl ölçüğünde blank örneği ve eppendorf tüplerdeki standart solüsyon yerleştirildi. Daha sonrasında 40 µl kan örneği yine kaydedilerek 96 kuyucuklu mikropolaka üzerine yerleştirildi. Kan örneklerinin üzerine 10 µl AOPP antikor solüsyonu ve 50 µl streptavidin- HRP eklendi. Daha sonra 96 kuyucuklu mikropolanın üzeri kapatıldı ve yavaşça çalkalandıktan sonra 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.

Bekleme süresince 30/1000 oranında yıkama solüsyonu distile su ile seyreltilerek hazırlandı.

İnkübasyon sonrasında 96 kuyucuklu mikropolaka üzerindeki membran dikkatlice çıkarıldı ve kuyucuklara yıkama solüsyonu eklendi. Daha sonra kuyucuklardaki sıvı drene edildi. Bu işlem 5 defa tekrarlandı.

Yıkama solüsyonu ile her kuyucuk yıkandıktan sonra tüm kuyucuklara 50 µl kromojen A solüsyonu eklendi ve sonrasında yine her bir kuyucuğa 50 µl kromojen B solüsyonu eklendi. Yavaşça çalkalandıktan sonra 10 dakika 37 °C'de karanlık ortamda inkübe edildi.

İnkübasyon sonrasında her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi ve anında her kuyucuğun rengi sarıya döndü.

Son olarak mikrolaka ölçüm cihazında 450 nm dalga boyunda ortalama 10 dakika süreyle sarı renge dönen 96 kuyucuklu mikrolaka ölçüldü ve sonuçlar kaydedildi.

3.6. Malondialdehit (MDA) Ölçüm Yöntemi

MDA parametresi YL Biont markalı YLA0335HU katalog numaralı Eliza kit ile ölçülmüştür. Kan serum örnekleri -86 °C'deki derin dondurucudan çıkartıldı ve 20 dakika oda sıcaklığında bekledikten sonra sıvılaştı. Eliza kit çalışılmadan önce 30 dk oda sıcaklığında bekletildi. 96 kuyucuklu mikrolakaya kan serum örnekleri 5 µl ölçüsünde sırası kaydedilerek pipetlendi.

3.6.1. MDA Eliza Kit Hazırlama Aşaması

Kit hazırlanma aşamasında öncelikle standart stok solüsyonu seyreltilerek hazırlandı. 6 adet eppendorf tüp alınarak üzerlerine sırasıyla 24, 12, 6, 3, 1.5 yazıldı. 48 ng/ml konsantrasyonlu stok standart tüpünden 120 µl ölçüsünde standart solüsyonlar alınıp içerisinde 120 µl standart seyreltici 24 ng/ml yazılı tüpe yerleştirildi. Daha sonra tüp karıştırıldı. Birinci tüpten alınan 120 µl solüsyon ikinci tüpe yerleştirildi ve karıştırıldı. Bu işlem son tüpe kadar devam etti. Böylelikle standart solüsyon hazırlandı.

Blank solüsyonu, kromojen A solüsyonu, kromojen B solüsyonu ve stop solüsyonu katılarak hazırlandı.

Kit içerisindeki 96 kuyucuklu mikrolakaya sıralaması kaydedilerek blank örneği ve eppendorf tüplerdeki standart solüsyon 50 µl yerleştirildi. Daha sonrasında 40 µl kan örneği yine kaydedilerek 96 kuyucuklu mikrolaka üzerine yerleştirildi. Kan örneklerinin üzerine 10 µl AOPP antikor solüsyonu ve 50 µl streptavidin- HRP eklendi. Daha sonra mikrolaka üzeri kapatıldı ve yavaşça karıştırıldıktan sonra 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.

Bekleme süresince 30/1000 oranında yıkama konsantrasyonu distile su ile seyreltilerek yıkama solüsyonu hazırlandı.

İnkübasyon sonrasında 96 kuyucuklu mikrolaka üzerindeki membran dikkatlice çıkarıldı ve kuyucuklara yıkama solüsyonu eklendi. Daha sonra kuyucuklardaki sıvı drene edildi. Bu işlem 5 defa tekrarlandı.

Yıkama solüsyonu ile her kuyucuk yıkandıktan sonra tüm kuyucuklara 50 µl kromojen A solüsyonu eklendi ve sonrasında yine herbir kuyucuğa 50 µl kromojen B solüsyonu eklendi. Yavaşça çalkalandıktan sonra 10 dakika 37 °C'de karanlık ortamda inkübe edildi.

İnkübasyon sonrasında her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi ve anında her bir kuyucukta renk sarıya döndü.

Son olarak mikrolaka ölçüm cihazında 450 nm dalga boyunda ortalama 10 dakika süreyle sarı renge dönen 96 kuyucuklu mikrolaka ölçüldü ve sonuçlar kaydedildi.

3.7. Protein Karbonil (PC) Ölçüm Yöntemi

Protein karbonil parametresi YL Biont markalı YLA1789HU katalog numaralı Eliza kit ile çalışılmıştır. -86 °C'deki derin dondurucudan kan serum örnekleri çıkartıldı. Eliza kit çalışılmadan önce oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. 5 µl ölçөгindeki kan serum örnekleri Eliza kitin 96 kuyucuklu mikrolaka kısmına yerleştirildi ve sırasıyla kaydedildi.

3.7.1. PC Eliza Kit Hazırlama Aşaması

Kit hazırlanma aşamasında öncelikle standart stok solüsyonu seyreltilerek hazırlandı. 6 adet eppendorf tüp alınarak üzerlerine sırasıyla 24, 12, 6, 3, 1.5 yazıldı. 48 ng /ml konsantrasyonlu stok standart tüpünden 120 µl ölçüsünde standart solüsyon alınıp içerisinde 120 µl standart seyreltici 24 ng/ml yazılı tüpe yerleştirildi. Daha sonra tüp karıştırıldı. Birinci tüpten alınan 120 µl solüsyon ikinci tüpe yerleştirildi ve karıştırıldı. Bu işlem son tüpe kadar devam etti. Böylelikle standart solüsyon hazırlandı.

Blank solüsyonu, kromojen A solüsyonu, kromojen B solüsyonu ve stop solüsyonu katılarak hazırlandı.

96 kuyucuklu mikrolakaya sıralaması kaydedilerek blank örneği ve eppendrof tüplerdeki standart solüsyon 50 µl yerleştirildi. Daha sonrasında 40 µl kan örneği yine kaydedilerek 96 kuyucuklu mikroplatete üzerine yerleştirildi. Kan örneklerinin üzerine 10 µl AOPP antikor solüsyonu ve 50 µl streptavidin- HRP eklendi. Daha sonra mikrolakaların üzeri kapatıldı ve yavaşça çalkalandıktan sonra 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.

Bekleme süresince 30/1000 oranında yıkama konsantrasyonu distile su ile seyreltilerek yıkama solüsyonu hazırlandı.

İnkübasyon sonrasında 96 kuyucuklu mikrolakaya üzerindeki membran dikkatlice çıkarıldı ve kuyucuklara yıkama solüsyonu eklendi. Daha sonra kuyucuklardaki sıvı drene edildi. Bu işlem 5 defa tekrarlandı.

Yıkama solüsyonu ile her kuyucuk yıkandıktan sonra tüm kuyucuklara 50 µl kromojen A solüsyonu eklendi ve sonrasında yine her bir kuyucuğa 50 µl kromojen B solüsyonu eklendi. Yavaşça çalkalandıktan sonra 10 dakika 37 °C'de karanlık ortamda inkübe edildi.

İnkübasyon sonrasında her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi ve anında her bir kuyucukta renk sarıya döndü. Son olarak mikrolakaya ölçüm cihazında 450 nm dalga boyunda ortalama 10 dakika süreyle sarı renge dönen 96 kuyucuklu mikroplatet ölçüldü sonuçlar kaydedildi.

3.8. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel analizler SPSS 23.0 (IBM SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) paket programı ile yapıldı. Verilerin normal dağılımlarını değerlendirmek için Shapiro Wilk testi kullanıldı. Normal dağılıma uyan sayısal değişkenler ortalama \pm standart sapma, normal dağılıma uymayanlar medyan (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. İki örneklemeli sayısal değişkenlerin karşılaştırması Unpaired Student t testi ve Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenler arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. Analizlerde güven aralığı (CI)% 95 olarak kabul edildi. P değeri <0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Araştırmamızda iki grup yer almaktadır. Hasta grubu fibromiyalji teşhisi konmuş D vitamini seviyesi 30 ng/ml den düşük 27 kadın hastadan oluşmaktadır. Kontrol grubu herhangi bir hastalık teşhisi bulunmayan D vitamini seviyesi 30 ng/ml'den yüksek olan 27 sağlıklı kadından oluşmaktadır. Araştırmamızda erkek birey bulunmamakta olup 54 kadın yer almaktadır.

Çalışmamızda yaş ortalaması fibromiyalji hastalarında 37 ± 6 ve kontrol grubunda 39 ± 7 olup aradaki fark anlamsızdır ($p=0,579$). VKİ parametresine baktığımızda fibromiyalji hastaları $27,86 \pm 2.73$ kontrol grubu ise $28,86 \pm 1,28$ verisi karşımıza çıkmakta olup aradaki fark anlamsız bulundu (Tablo 4.1) ($p=0,920$).

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol gruplarında yaş ve vücut kitle indeksinin karşılaştırılması

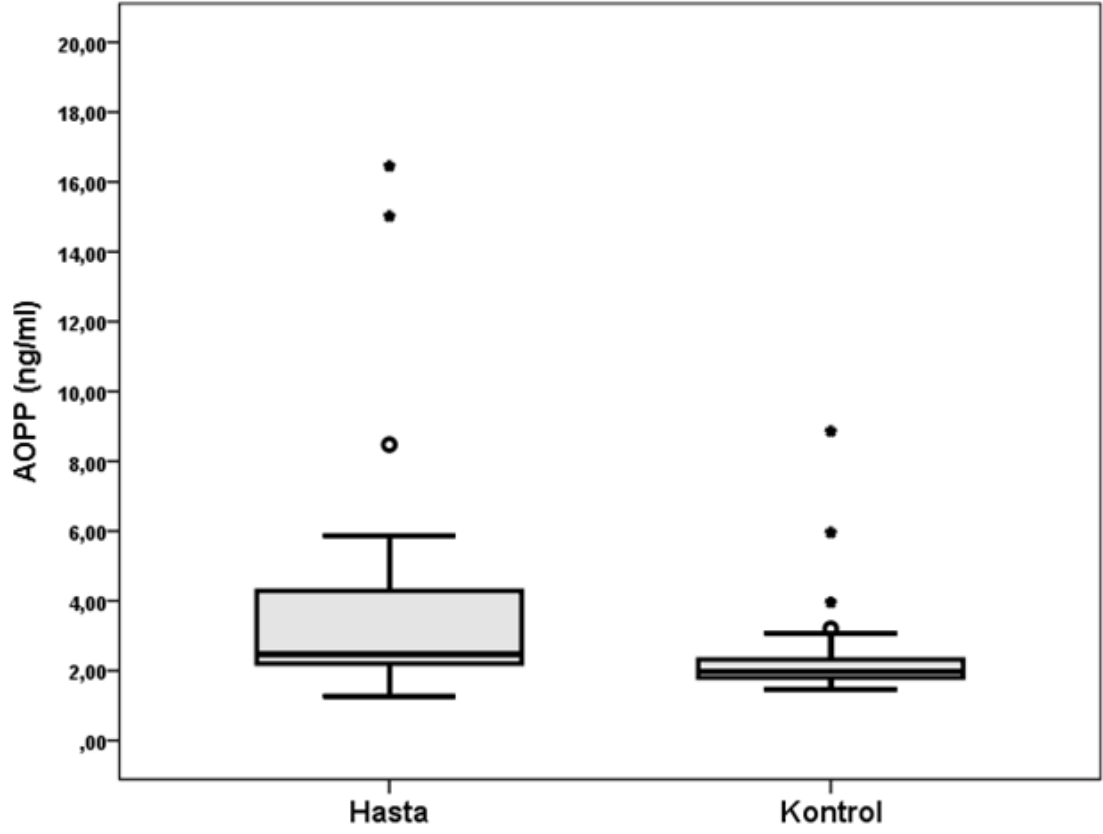
Parametreler	Kontrol(n=27)	Hasta (n=27)	p değeri
Yaş	39,00 (25-45)	37,00 (25-45)	= 0,579
VKİ	28,86±1,28	27,86±2.73	=0,920

VKİ; Vücut Kitle Endeksi

Tablo 4.2'de fibromiyalji teşhisi konmuş hastalarda D vitamini replasman tedavisi öncesi ve sonrası parametreleriyle kontrol hastalarının parametreleri bulunmaktadır. Bu tabloda hasta grubunun tedavi öncesi parametre düzeyleri ve tedavi sonrası parametre düzeyleri, kontrol grubu parametre düzeyleri ile kıyaslanmıştır. Tedavi öncesi D vitamini seviyesi 6,010 (3,00-20,00) iken tedavi sonrasında 34,42 (20,15-64,81) olarak bulunmuştur.

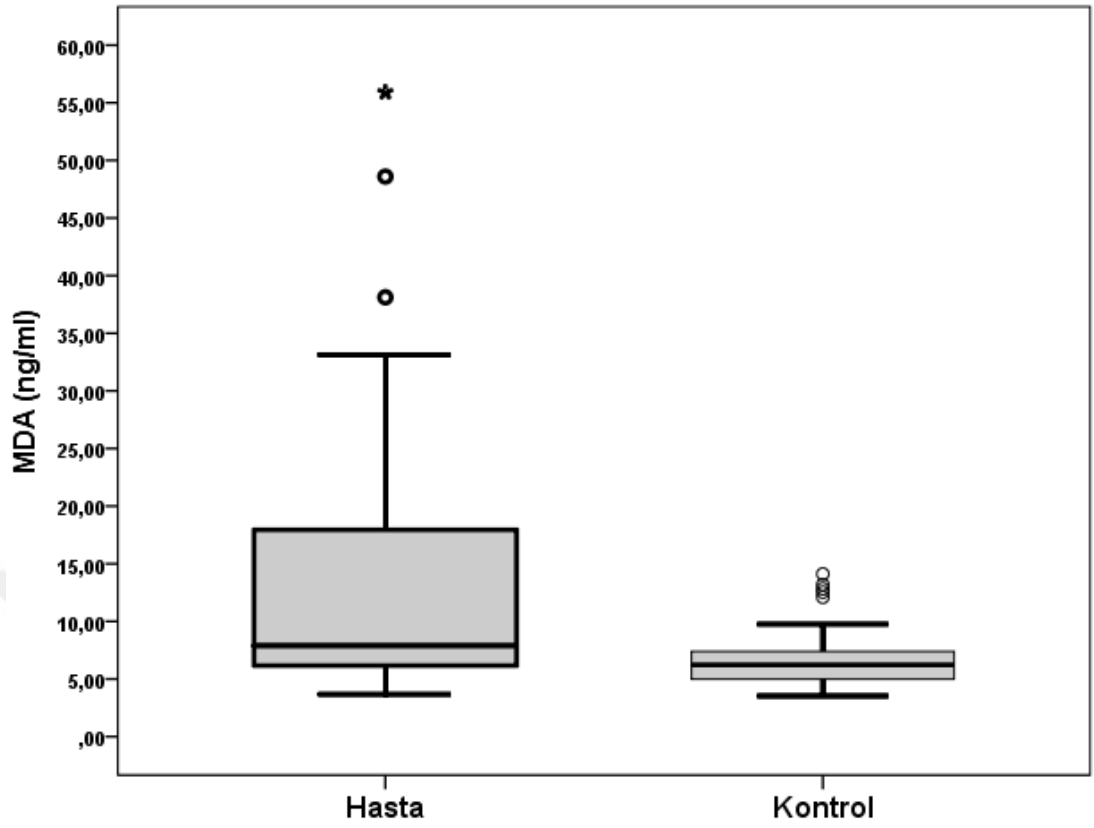
Tedavi öncesi ve sonrası hasta grubu 8-OHdG seviyesinde kontrol grubuna göre anlamlı fark gözlenmemiştir (*sırasıyla*; $p=0,232$, $p=0,266$).

Tablo 4.2 ve Şekil 4.1'de gösterildiği gibi tedavi öncesi hasta grubunda AOPP seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir ($p=0,002$). Tedavi sonrasında ise hasta grubunda AOPP seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde farklılık gözlenmiştir ($p=0,001$).



Şekil 4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarında AOPP Düzeyleri

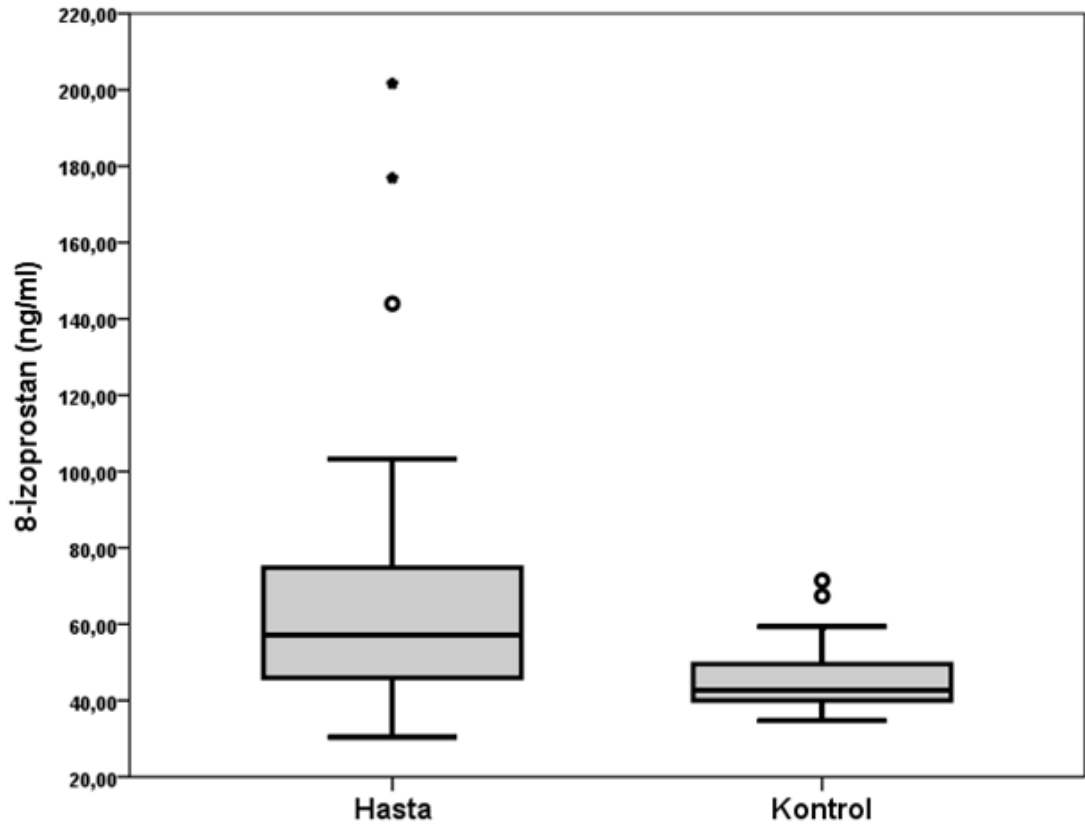
Tablo 4.2 ve Şekil 4.2’de gösterildiği gibi tedavi öncesi hasta grubunda MDA seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir ($p=0,009$). Tedavi sonrasında hasta grubunda MDA seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı seviyede azalmıştır ($p=0,003$).



Şekil 4.2. Hasta ve Kontrol Gruplarında MDA Düzeyleri

Tedavi öncesi ve sonrası hasta grubu PC seviyesinde kontrol grubuna göre anlamlı fark gözlenmedi ($p=0,130$) ($p=0,061$).

Tablo 4.2 ve Şekil 4.3’de tedavi öncesinde hasta grubunda 8-izoprostan seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenirken tedavi sonrasında ise hasta grubunun 8-izoprostan seviyesinde kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır ($p<0,001$) ($p=0,261$).



Şekil 4.3. Hasta ve Kontrol Gruplarında 8-İzoprostan Düzeyleri

Tablo 4.2. Kontrol ve hasta gruplarında oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

Parametreler	Kontrol (n=27)	D ₃ Vitamini Replasman Tedavisi Öncesi		D ₃ Vitamini Replasman Tedavisi Sonrası	
		Hasta (n=27)	p-Değeri	Hasta (n=27)	p-Değeri
D Vitamini	30,06 (20,20-67,25)	6,010 (3,00-20,00)	<0,001	34,42(20,15-64,81)	=0,952
8-OHdG (ng/ml)	63,48± 30,37695	72,78± 25,91	=0,232	71,67±22,72	=0,266
AOPP (ng/ml)	1,983(1,46-8,86)	2,470(1,27-16,45)	= 0,002	2,707(1,740-16,24)	= 0,001
MDA (ng/ml)	6,232(3,53-14,11)	7,888 (3,67-55,91)	= 0,009	7,421(4,750-48,96)	= 0,003
PC (ng/ml)	18,31(14,63-39,57)	23,81(13,58-107,04)	=0,130	20,81(13,81-134,9)	=0,061
8-izoprostan (ng/ml)	42,65(34,68-71,43)	57,08(30,36-201,63)	< 0,001	47,69(24,66-212,9)	=0,261

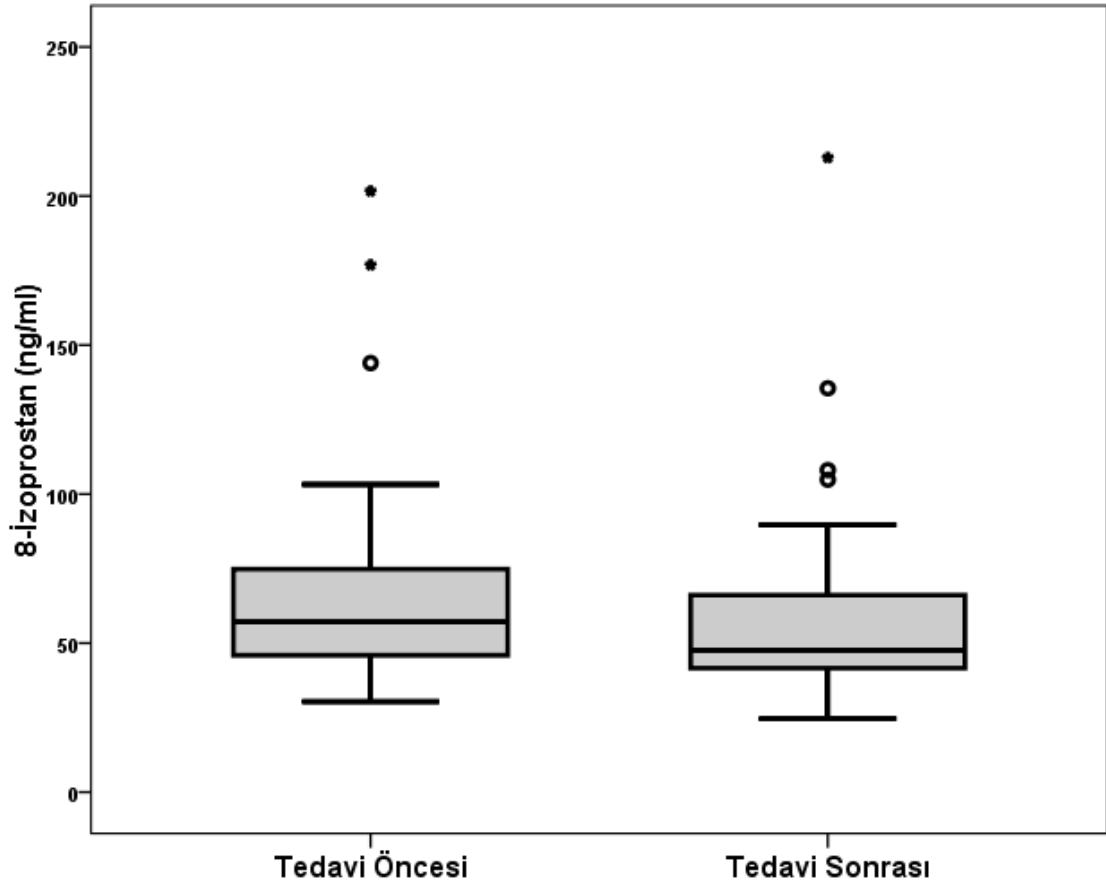
8-OHdG, 8- Hidroksideoksiguanozin; AOPP, İleri Düzey Protein Oksidasyon Ürünleri; MDA, Malondialdehit; PC, Protein Karbonil, p değeri: kontrola göre

Fibromiyalji hastalarında D vitamini replasman tedavisi öncesi ve sonrası anlamlılık düzeyi Tablo 4.3’de gösterilmiştir. Şekil 4.4’de gösterildiği gibi oksidatif stres parametrelerinden sadece 8-izoprostan seviyesinde tedavi sonrasında anlamlı düşüş gözlenmiştir ($p=0,002$)

Tablo 4.3. Fibromiyalji hastalarında D₃ replasman tedavisi öncesi ve sonrası oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

Parametreler	D ₃ Replasman Tedavisi Öncesi	D ₃ Replasman Tedavi Sonrası	p Değeri
D vitamini	6,010 (3,00-20,00)	34,42(20,15-64,81)	=0,952
8-OHdG (ng/ml)	72,78± 25,91099	71,68± 22,72502	=0,684
AOPP (ng/ml)	2,470 (1,27-16,45)	2,707(1,74-16,24)	=0,178
MDA (ng/ml)	7,888 (3,67-55,91)	7,431(4,75-48,96)	=0,280
PC (ng/ml)	23,81(13,58-107,04)	20,81(13,81-134,85)	=0,597
8-izoprostan (ng/ml)	57,08(30,36-201,63)	47,69(24,66-212,85)	=0,002

8-OHdG, 8- Hidroksideoksiguanozin; AOPP, İleri Düzey Protein Oksidasyon Ürünleri; MDA, Malondialdehit; PC, Protein Karbonil



Şekil 4.4. Hasta Grubunda Tedavi Öncesinde ve Tedavi Sonrasında 8-İzoprostan Düzeyleri

Tablo 4.4’de ise D vitamini ve oksidatif stres parametrelerinin birbirleriyle olan ilişkisi gösterilmektedir. Serum D vitamini düzeyleri ile AOPP, MDA ve 8-izoprostan seviyeleri arasında anlamlı ters bir ilişki gözlenmiştir. Ancak D vitamini düzeyleri ile PC ve 8-OHdG seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir.

AOPP seviyesi 8-OHdG seviyesi haricinde diğer parametrelerin seviyeleri ile doğru ve anlamlı ilişkiye sahiptir ($\rho = 0,091$, $p = 0,513$). MDA seviyesi ile 8-izoprostan ve PC seviyeleri arasında doğru ve anlamlı ilişki gözlenmiştir (*sırasıyla*; $\rho = 0,741$, $p = 0,001$, $\rho = 0,664$, $p = 0,001$).

8-OHdG seviyesi ile 8-izoprostan ve PC seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır (*sırasıyla*; $\rho = 0,169$, $p = 0,221$, $\rho = 0,179$, $p = 0,195$). 8-izoprostan seviyesi ile PC seviyesi arasında doğru anlamlı bir ilişki gözlenmiştir ($\rho = 0,647$, $p = 0,001$).

Tablo 4.4. D vitamini ile oksidatif stres parametrelerinin birbirleriyle olan ilişkisi

Parametreler		AOPP (ng/ml)	MDA (ng/ml)	8-OHdG (ng/ml)	8-izoprostan (ng/ml)	PC (ng/ml)
D vitamini	<i>rho</i>	-0,415	-0,402	-0,133	-0,445	-0,173
	<i>p</i>	0,002	0,003	0,339	0,001	0,211
AOPP (ng/ml)	<i>rho</i>		0,781	0,091	0,726	0,699
	<i>p</i>		0,001	0,513	0,001	0,001
MDA (ng/ml)	<i>rho</i>			0,082	0,741	0,664
	<i>p</i>			0,555	0,001	0,001
8-OHdG (ng/ml)	<i>rho</i>				0,169	0,179
	<i>p</i>				0,221	0,195
8-izoprostan (ng/ml)	<i>rho</i>					0,647
	<i>p</i>					0,001

8-OHdG, 8- Hidroksideoksiguanozin; AOPP, İleri Düzey Protein Oksidasyon Ürünleri;
MDA, Malondialdehit; PC, Protein Karbonil

5. TARTIŞMA

Fibromiyalji sendromu 3 aydan fazla süren yaygın kas ağrıları, uykusuzluk veya uyku düzensizliği ile karakterize ve bu kas ağrılarının neden olduğu anksiyete, depresyon, halsizlik, eklem sertliği, baş ağrısı, dikkat eksikliğinin eşlik ettiği toplumda sık görülen bir hastalıktır (101). Ayırıcı tanıda vücutta belirli 18 hassas noktanın 11'inde aşırı hassasiyet ve ağrı önemli rol oynamaktadır. Etiyopatogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte fibromiyaljiye özel olmayan genetik faktörler ve çevresel etmenlerin hastalığın nedenleri arasında olduğu düşünülmektedir (102).

D vitamini eksikliği klinik semptomları depresyon, kas iskelet sistemi ağrıları (vücut genelinde), kas güçsüzlüğü, kafanın çok terlemesi, kaslarda oluşan kramplar, genel halsizlik, eklemlerde ağrı, kilo alma problemi olarak tespit edilmiştir. D vitamini eksikliği veya yetersizliğinde görülen belirtilerin bazıları fibromiyalji hastalığının belirtileriyle benzerdir.

Vücuttaki D vitamini seviyesini tespit etmek için yarılanma süresi 2-3 hafta olan, hem D vitamini alınma düzeyini hem de endojen kaynaklı yapımı gösteren 25(OH)D seviyesi incelenmelidir. Kanda bulunan aktif formlardan 1,25(OH)₂D optimal ölçüm için anlamlı ve yeterli değildir. Zira yarılanma süresi 4-6 saat kadar ve dolaşım sistemindeki seviyeleri 25(OH)D'den 1000 kat daha az seviyededir. D vitamini eksikliği ve yetersizliğinin ve 25(OH)D düzeyinin normal aralığının belirlenmesi adına için birçok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalar neticesinde; 25(OH)D seviyesi 20 ng/mL'den düşük ise kişide D vitamini eksikliği mevcuttur. 25(OH)D seviyesi 21 ile 29 ng/mL arasında ise bireyde D vitamini yetersizliği bulunmaktadır. 25(OH)D seviyesi 30 ng/mL'den yüksek ise yeterli düzey (tercih edilen aralık 40-60 ng/mL) olarak adlandırılır. 150 ng/mL'den yüksek ise D vitamini zehirlenmesi olarak kabul görmektedir (103).

Sağlıklı bireylerde hücresel bazı tepkimeler neticesinde serbest radikaller oluşur ve bunlar antioksidan savunma mekanizması yoluyla yok edilerek vücut içerisinde denge durumunda kalır. Bu dengenin değişmesi ile oluşan serbest radikaller ortadan kaldırılmazsa, DNA, lipidler ve proteinler oksidatif hasara maruz kalırlar. Artan ROS ürünlerinin meydana getirdiği oksidatif stres, mutasyonu artırarak DNA hasarı oluşturması neticesinde kanser hastalığına ön ayak olabilmektedir (104). Hücrede yer

alan serbest oksijen radikalleri hücre duvarındaki doymamış yağ asitleriyle tepkimeye girerek lipid peroksidasyonuna neden olur. Oksidatif hasarın en önemli sonuçları hücresel yapı ve bütünlüğün bozulması ile kanser ve birçok hastalığın etyolojisinde yer almasıdır (105).

Yapılan çalışmalarda oksidatif stresin; metabolik hastalıklar, kronik karaciğer hastalıkları, akciğerin kronik hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar, enflamatuvar barsak hastalıkları, mesane kanseri, renal hücreli karsinoma gibi malign ve kronik hastalıkların patogeneğinde, yenidoğanlarda prematür retinopatisi, nekrotizan enterokolit, intraventriküler hemoraji, hipoksik iskemik ensefalopati gibi akut ve kronik hastalıkların oluşumunda pay sahibi olduğu gözlemlenmiştir (106-112).

Çalışmamızda yer alan hasta grup (n=27) fibromiyalji teşhisi konulmuş ve D vitamini seviyesi 30 ng/ml'dan az olan kadın hastalardan oluşmaktadır. Kontrol grubu D vitamini seviyesi 30 ng/ml'dan fazla olan (n=27) sağlıklı kadından oluşmaktadır. D vitamini seviyesi düşük hastalarımıza 4-6 hafta süresince haftada 50000 µl ölçeğinde D vitamini takviyesi verilmiştir. Tedavi öncesinde ve sonrasında hastalarımızın 25(OH)D vitamin seviyeleri ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Tedavi sonrasında D vitamini seviyesi 30 ng/ml'dan fazla olan hastalar çalışmada yer almıştır. Kontrol grubunda yer alan 27 sağlıklı kadından sadece 1 defaya mahsus rutin tetkikler yapılmak üzere kan örneği alınmıştır. Hasta grubu ve kontrol grubundan alınan kan serum örnekleri 3 gruba ayrılmıştır. Birinci grup fibromiyalji tanılı D vitamin takviyesi almadan önceki kan serum örneklerinden oluşmaktadır. İkinci grup fibromiyalji tanılı D vitamin takviyesi aldıktan sonraki kan serum örneklerinden; üçüncü grup kontrol grubu kan serum örneklerinden oluşmaktadır. Araştırmamızda AOPP, MDA, 8-OHdG, 8-izoprostan, PC seviyelerinin D vitamini seviyesi ile ilişkisi gözlemlenmiştir.

Fatıma G. ve ark. (77) fibromiyalji anılı 30 kadın ve fibromiyalji tanısı olmayan 30 sağlıklı kadın bireylerin bazı oksidatif ve antioksidatif parametrelerinin klinik semptomları ile ilişkisini incelemiştir. Oksidatif stres parametrelerinden lipid peroksit (LPO) ve protein karbonil; antioksidatif stres parametrelerinden katalaz, glutatyon peroksidaz (GP_x) ve glutatyon reduktaz (GR) araştırılmıştır. Katalaz, GP_x ve GR parametresi fibromiyalji tanılı hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük çıkmıştır. Oksidatif stres parametrelerinden LPO ve protein karbonil ise kontrol grubuna

göre fibromiyalji tanılı bireylerde anlamlı bir şekilde yüksek çıkmıştır. Bizim çalışmamızda D vitamini seviyesi düşük fibromiyalji hastalarında AOPP, MDA ve 8-izoprostan seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmıştır (*sırasıyla; p= 0,002, p= 0,009, p< 0,001*). PC ve 8-OHdG seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (*sırasıyla; p= 0,130, p= 0,232*).

Sánchez-Domínguez B. ve ark. (120) yaptıkları çalışmada 25 fibromiyalji tanılı kadın hasta ile 20 sağlıklı kadın bulunmaktadır. Hasta grubunun tanısı 2 veya 3 yıl öncesine dayanmaktadır. Hasta ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinde Coenzim Q10 düzeyi, mitokondrial enzim aktivitesi, ATP seviyesi, TNF alfa düzeyi ve lipid peroksidasyonu incelendi. Çalışma sonucunda fibromiyalji hastalarında önemli seviyede enflamasyon ve oksidatif stres gözlendi. Bizim çalışmamızda da fibromiyalji hastalarının oksidatif stres düzeylerinin sağlıklı bireylere göre anlamlı seviyede yüksek olduğu gözlenmiştir.

Bozkurt M. ve ark. (113) yaptığı çalışma 3 yıl önce fibromiyalji teşhisi konmuş 40 hasta ve 30 sağlıklı kişileri kapsamaktadır. Çalışmada yer alan kişilerde serum prolidaz enzim aktivitesi, total antioksidan durum (TAS), total oksidatif durum (TOS), oksidatif stres indeksi ve paraoksonaz-1 (PON-1) düzeyi incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda hasta grubunda serum TAS ve PON-1 seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Buna rağmen hasta grubunda serum prolidaz aktivitesi, TOS ve oksidatif stres indeksi kontrol grubuna göre anlamlı seviyede yüksek olduğu gözlenmiştir. Serum prolidaz aktivitesi TOS ve oksidatif stres indeksi ile pozitif bir korelasyon içerisinde olduğu istatistiksel açıdan saptanmıştır. Sonuç olarak serum prolidaz düzeyinin fibromiyalji ile ilişkisi gözlenmiş olup artmış prolidaz aktivitesinin fibromiyalji tedavisine katkıda bulunabileceği tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda hasta grubunda AOPP, MDA, 8-izoprostan seviyesinin kontrol grubuna anlamlı düzeyde yüksek çıkması; bunun yanında hasta grubunda PC ve 8-OHdG seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde değişiklik gözlenmemesi yukarıdaki çalışmayı destekler niteliktedir.

Mirzaei ve ark. (114) 2018 yılında yaptıkları araştırmada 25(OH)D serum vitamin seviyesi düşük fibromiyalji hastalarına haftada 50000 µl D vitaminini 4-8 hafta arasında trazadone (depresyon ilacı) ile birlikte vermişlerdir. Randomize 2 gruba ayrılan

hastaların bir grubuna trazadone ve D vitamini diğer gruba sadece trazadone verilmiştir. Ağrı skalaları hastalar çalışmaya alınmadan önce hastalara uygulanmıştır. Tedavi sonrasında hastaların ağrı skalalarına tekrardan bakıldığında hastaların ağrıları önemli bir ölçüde azalmış ve yaşam kaliteleri artmıştır. Sonuç olarak fibromiyalji tedavisi düzenlenmesinde ve ağrının azalmasında D vitamini tedavisi önemli bir yer tutmaktadır. Çalışmamızda D vitamini düzeyi düşük fibromiyalji hastalarına 4-6 hafta boyunca verilen D vitamini takviyesi sonucunda hastaların incelediğimiz oksidatif stres düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığı gözlenmiştir. Çalışmamızın sonucu Mirzaei ve ark.'nın yaptığı çalışmayı desteklemekle birlikte fibromiyalji tedavisinde D vitamini yer alması gerektiği sonucunu doğurmaktadır.

De carvalho JF. ve ark. (115) yaptığı araştırmada D vitamini düşük 11 fibromiyalji hastasına 3 ay boyunca haftada 50000 µl D vitamini verildi. Ağrı skalasına göre hastalığın semptomlarında ciddi seviyede iyileşme saptandı. Bizim çalışmamızda D vitamini tedavisinin oksidatif stres düzeyini azalttığı ve D vitamini ile AOPP, MDA, 8-izoprostan arasında anlamlı ters bir ilişki gözlenmiştir.

Doğru A. ve ark. (116) yaptığı çalışmada ise 70 fibromiyalji tanılı hastaları 3 gruba ayrılmıştır. Birinci grup 25(OH)D vitamini seviyesi 20 ng/ml' den düşük yani D vitamini yetersiz bireylerden oluşmaktadır. İkinci grup 25(OH)D vitamini seviyesi 20 ng/ml-30 ng/ml arası bir başka deyişle D vitamini eksikliği olan kişilerden oluşmaktadır. Üçüncü grup ise D vitamini seviyesi 30 ng/ml'dan fazla olan bireylerden oluşturuldu. Birinci ve ikinci grubun semptomları birbirine yakın olup ve D vitamini takviyesi sonrasında 2 grubunda semptomları anlamlı bir şekilde iyileşme göstermiştir. Bizim çalışmamızda ise fibromiyalji hastalarında D vitamini tedavisi ve öncesi anlamlılık düzeyine baktığımızda sadece 8-izoprostan anlamlı düzeyde azalma göstermektedir.

Igde M. ve ark. (117) astım tanılı çocuklarda oksidatif stres, D vitamini seviyesi ve solunumsal fonksiyon arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. 6-17 yaş arası 90 stabil astım tanılı çocuğun kan serumunda TAC, TOS, PON-1, 25(OH)D vitamini seviyesi ve solunum fonksiyonları ölçüldü. TAC ile yaş ve FEV1 arasında istatistiksel bir korelasyon bulunamadı. Buna rağmen TAC ile 25(OH)D, TAC ile TOS, TAC ile PON-1 ve TAC ile IgE arasında belirli bir şekilde pozitif korelasyon gözlendi. TAC ile PEF arasında ise

ters korelasyon izlendi. Çalışma sonucunda oksidatif stres düzeyi ile serum D vitamini seviyesi arasında ilişki saptandı ve klinik denemeler ve ölçümler 25(OH)D seviyesinin artması astım kontrolünde gelişmeyi de beraberinde getirdi. Bizim çalışmamızda ise fibromiyalji hastalarında D vitamini ve AOPP, MDA ve 8-izoprostan arasında ters ve anlamlı bir ilişki saptandı ve D vitamini seviyesinin artması fibromiyalji hastalığının tedavisinde önemli bir yer tutabileceği gözlenmiştir.

Rahsepar M. ve ark. (118) polikistik ovaryum sendromu tanılı kadınlarda D vitamini seviyesi ve bunun oksidatif stres parametreleriyle olan ilişkisini araştırmışlardır. 60 polikistik ovaryum sendromlu kadın hasta ve 90 sağlıklı kadın çalışmaya alınmıştır. 25(OH)D, glikoz, MDA, PC, insülin, kalsiyum, insülin direnci ve glikozun insülin oranı ölçüldü. Sonuçlara bakıldığında serum 25(OH)D seviyesi hasta ve kontrol grubu kıyaslandığında anlamlı bulunmadı. Yine aynı şekilde serum D vitamini seviyesi ile oksidatif stres parametreleri arasında her iki grupta da anlamsız bulundu. Bizim çalışmamızda ise fibromiyalji hastalarında D vitamini takviyesinin 8-izoprostan düzeyini anlamlı bir şekilde azalttığı gözlenmiştir.

Anandabaskar N. ve ark. (119) serum D vitamini seviyesi düşük tip 2 diyabetik hastalarında D vitamini takviyesinin vasküler fonksiyonlar ve oksidatif strese etkisini araştırmışlardır. D vitamini seviyeleri 20 ng/ml' den düşük 103 tip 2 diyabetik hasta çalışmaya alınmış olup 8 haftalık D vitamini takviyesi almışlardır. Vasküler fonksiyon ve oksidatif stres parametreleri 8 haftalık tedavi sonrasında ölçülmüştür. Sonuç olarak D vitamini takviyesinin tip 2 diyabetik hastalarda vasküler fonksiyonu geliştirdiği ve oksidatif stresi düzenlediği gözlemlenmiştir. Çalışmamızda yukarıdaki çalışmayı destekler nitelikte fibromiyalji hastalarında D vitamini düzeyinin artması oksidatif stresi düzenlediği gözlenmiştir.

Geçmiş çalışmalar incelendiğinde oksidatif hasar parametrelerinin fibromiyalji patofizyolojisinde yer aldığı gözlemlenmiştir. Yine aynı şekilde 25(OH)D seviyesi düşük fibromiyalji tanılı bireylere D vitamini takviyesi sonucunda klinik belirtiler önemli ve de anlamlı bir seviyede azalmıştır. Çalışmamız geçmiş çalışmaları desteklemekle beraber çalışmamızda D vitamini takviyesi ile oksidatif stres düzeyinin azalması arasında ilişki gözlenmiştir. Gelecek çalışmalarda ise D vitamini seviyesi

düşük fibromiyalji hastalarında D vitamini takviyesine bağı olarak antioksidatif parametreler incelenebilir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar;

1. D vitamini seviyesi düşük fibromiyalji tanılı kadın hastalarda oksidatif stres parametreleri (AOPP, MDA, 8-İzoprostan) anlamlı seviyede yüksek bulunmuştur.
2. D vitamini seviyesi düşük fibromiyalji tanılı kadın hastalara D vitamini takviyesi oksidatif stresi kısmen azaltmıştır.
3. Tüm bulgular birlikte değerlendirildiğinde D vitamini ile oksidatif stres parametreleri (AOPP, MDA, 8-İzoprostan) arasında ters ve anlamlı ilişkiler gözlenmiştir.

Fibromiyalji hastalarının tedavi protokolünde D vitamini takviyesinin yapılması, hastaların oksidatif stres düzeyini azaltacağı ve bununla beraber klinik semptomları azaltacağını düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Genç H, Atasever M, Duyur Çakit B, Seval M, Koç A. The Effects of Fibromyalgia Syndrome on Physical Function and Psychological Status of Pregnant Females. *Arch Rheumatol*. 2017 Jan 5; 32(2): 129-40.
2. Oktan B. D Vitamini Eksikliği Olan Olgularda Periferik Sinir Etkilenmesi. Celal Bayar Üniversitesi Nöroloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Manisa, 2015, s56.
3. Bosetti C, Negri E, Kolonel L. A Pooled Analysis of Case-Control Studies of Thyroid Cancer. VII. Cruciferous and Other Vegetables. *Cancer Causes Control*. 2002 Oct; 13(8): 765-75.
4. Wolfe F, Ross K, Anderson J, Russell IJ. Aspects of Fibromyalgia in the General Population: Sex, Pain Threshold, and Fibromyalgia Symptoms. *J Rheumatol* 1995; 22(1): 151–6.
5. Yunus MB, Masi AT. Mc Carty DJ, Kopman WJ Editors. Fibromyalgia, Restless Legs Syndrome, Periodic Limb Movement Disorder and Psychogenic Pain. In *Arthritis and Allied Condition*. 12th Edition. Philadelphia. 1992: 1383-405.
6. Zakharavo-Luneva E, Jull G, Johnston V, O’Leary S. Altered Trapezius Muscle Behavior in Individuals with Neck Pain and Clinical Signs of Scapular Dysfunction. *J Manipulative Physiol Ther* 2012; 35(5): 346-53.
7. Smythe HA, Moldofsky H. Two Contributions to Understanding of the“Fibrositis” Syndrome. *Bull Rheum Dis* 1977; 28: 928-31.
8. Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, Bennett RM, Bombardier C, Goldenberg DL, et al. The Am College of Rheumatol 1990 Criteria for the Classification of Fibromyalgia: Report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum*. 1990; 33: 160-72.
9. Jain AK, Carruthers BM, Van De Sande M, Barron SR, Donaldson S, Dunne JV. Fibromyalgia Syndrome: Canadian Clinical Working Case Definition, Diagnostic and Treatment Protocols-a Consensus Document. *J Musculoskeletal Pain* 2003; 11: 3-76.
10. Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles MA, Goldenberg DL, Katz RS, Mease P, et al. The Am College of Rheumatol Preliminary Diagnostic Criteria for Fibromyalgia and Measurement of Symptom Severity. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2010; 62: 600-10.
11. Clauw DJ, Chrousos GP. Chronic Pain and Fatigue Syndromes: Overlapping Clinical and Neuroendocrine Features and Potential Pathogenic Mechanisms. *Neuroimmunomodulation* 1997; 4: 134-53.
12. Yunus MB. Central Sensitivity Syndromes: A New Paradigm and Group Nosology for Fibromyalgia and Overlapping Conditions, and the Related Issue of Disease Versus Illness. *Semin Arthritis Rheum* 2008; 37: 339-52.
13. Clauw DJ. Fibromyalgia: Update on Mechanisms and Management. *J Clin Rheumatol* 2007; 13: 102-9.

14. Marcus DA. A Primary Care Guide to Practical Management. In Chronic Pain. PA Human Pres. Pain Institute, University Of Pittsburgh, Pittsburgh; 2005. P. 15-30.
15. Wolfe F, Ross K, Anderson J, Russell IJ, Hebert L. The Prevalence and Characteristics of Fibromyalgia in the General Population. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 19-28.
16. Gür A, Çevik R, Nas K, Saraç AJ, Özen Ş. Quality of Life in Young Fibromyalgia Patients and Effect of Depression. *Aplar J Rheumatol* 2006; 9: 70-8.
17. Mäkelä M, Heliövaara M. Prevalence of Primary Fibromyalgia in the Finnish Population. *BMJ* 1991; 303: 216-9.
18. Farooqi A, Gibson T. Prevalence of the Rheumatic Disorders in the Adult Population of North Pakistan. *Br J Rheumatol.* 1998; 37: 491-5.
19. Arif D, Nergis E. Fibromiyalji sendromu. *Klinik gelişim.* 2009; 22(3): 60-5.
20. Helmann DB, Stone HJ. Fibromyalgia. *Current Consult.* 2006;1: 2110-9.
21. White KP, Speechley M, Harth M, Ostbye T. Co-Existence of Chronic Fatigue Syndrome with Fibromyalgia Syndrome in the General Population. *Scand J Rheumatol.* 2000; 29(1): 44-51.
22. Yunus MB, Masi AT. Juvenile Primary Fibromiyalgiya Syndrome, A Clinical Study of Thirtythree Patients and Matched Normal Controls. *Arthritis Rheum* 1985 Feb; 28(2): 138-45.
23. Yunus MB. Fibromyalgia and Overlapping Disorders: The Unifying Concept of Central Sensitivity Syndromes. *Semin Arthritis Rheum.* 2007; 36: 339-56.
24. Dursun H. Kronik Ağrı Ve Tedavisi. *Geleneksel Çubukçu Günleri, Ağrı Sempozyumu. Ege Fiziksel Tıp Ve Rehabilitasyon Dergisi (Özel Sayı),* 1998; 4(3), 3345.
25. Arnold LM, Keck PEJ, Welge JA. Antidepressant Treatment of Fibromyalgia: A Meta-Analysis and Review. *Psychosomatics* 2000; 41: 104-13.
26. Norregaard J, Volkmann H, Danneskiold-Samsøe B. A Randomized Controlled Trial of Citalopram in the Treatment of Fibromyalgia. *Pain* 1995; 61: 445-9.
27. Crofford LJ, Rowbotham MC, Mease PJ, Russell IJ, Dworkin RH, Corbin AE, et al. Pregabalin for the Treatment of Fibromyalgia Syndrome: Results of a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Arthritis Rheum* 2005 Apr; 52(4): 1264-73.
28. Hakan P. Fibromiyalji Hastalarında Skapular Stabilizasyon Egzersiz Eğitimine Postür ve Ağrı Üzerindeki Etkisi. *Hasan Kalyoncu Üniversitesi Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep.* 2018; s88.
29. Belanger AY. Kanıta Dayalı Elektroterapi. *Ankara: Feryal Matbaacılık Sanayi;* 2008. s.43-96.
30. Gursel Y. Terapötik egzersizler. *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon. Ankara: Güneş Kitabevi;* 2000. s.909-29.

31. Okifuji A, Bradshaw DH, Olson C. Evaluating Obesity in Fibromyalgia: Neuroendocrine Biomarkers, Symptoms, and Functions. *Clin Rheumatol* 2009 Apr; 28: 475-8.
32. Carville SF, Arendt-Nielsen S, Bliddal H, Blotman F, Branco JC, Buskila D, Da Silva JA, Et Al. Eular Evidence-Based Recommendations for the Management of Fibromyalgia Syndrome. *Ann Rheum Dis* 2008 Apr; 67(4): 536-41.
33. Thomas EN, Blotman F. Aerobic Exercise in Fibromyalgia: A Practical Review. *Rheumatol Int* 2010 Jul; 30(9): 1143-50.
34. Rooks DS, Gautam S, Romeling M, Cross ML, Stratigakis D, Evans B, et al. Group Exercise, Education, and Combination Self-Management in Women With Fibromyalgia: A Randomized Trial. *Arc Intern Med* 2007 Nov 12; 167(20): 2192-200.
35. Oran Ö, Dönmez A, Erdoğan N. Psychiatric Co-Morbidity Affects of Symptoms of Fibromyalgia. *Phys Med Rehab Kuror* 2002; 12(5): 284-7.
36. Köken T, Kahraman A, Serteser M, Gökçe Ç. Hemodiyaliz ve Oksidatif Stres. *Afyon: Kocatepe Tıp Dergisi* 5 Ek Sayı; 2004. s. 9-13.
37. Shinde A, Ganu J, Naik P. Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A Review. *India: J Dental Allied Sciences*; 2012 Jan; 1(2): 63-6.
38. Clarkson P.M, Thompson H.S. Antioxidants: What Role Do They Play in Physical Activity and Health? *Am J Clin Nutr* 2000 Aug; 72(2 Suppl): 637-46.
39. Serafini M, Del Rio D. Understanding the Association between Dietary Antioxidants, Redox Status and Disease: Is The Total Antioxidant Capacity The Right Tool. *Redox Report* 2004; 9(3): 145-52.
40. Cheeseman KH, Slater TF. An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br. Med. Bull* 1993 Jul; 49(3): 481-93.
41. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest radikaller. *Burdur: MAKÜ Sag. Bil. Enst. Dergisi*; 2016. 4(1):50-9.
42. Rice-Evans CA. Free Radical Damage and its Control. 1st Edition Elsevier Science. London: 1994; p. 131-53.
43. Brent JA, Rumack HH. Role of Free Radicals in Toxic Hepatic Injury I. Free Radical Chemistry. *J Toxicol Clin* 1993; 31(1): 139-71.
44. Wetberg AB, Weitzman SA, Clarck EP, Stossel TP. Effets of Antioxidants on Oxidant-Induced Sister Chromatid Exchange Formation. *J Clin Invest* 1985 Jun; 75(6): 1835-41.
45. Stirpe F, Ravaioli M, Battelli MG, Musiani S, Grazi GL. Xanthine Oxidoreductase Activity in Human Liver Disease. *Am J Gastroenterol* 2002 Aug; 97(8): 2079-85.
46. Ceran C, Sönmez K, Türkyllmaz Z, Demirogulları B, Dursun A, Düzgün E, et al. Effect of Bilirubin in İschemia/Reperfusion İnjury on Rat Small İntestine. *J Pediatr Surg* 2001 Dec; 36(12): 1764-7.

47. Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russell GI. Differential Effect of Ischemia-Reperfusion Injury on Anti-Oxidant Enzyme Activity in The Rat Kidney. *Exp Nephrol* 1995 Nov-Dec; 3(6): 348-54.
48. Jensen SJ. Oxidative Stres and Free Radicals. *Journal of Molecular Structure* 2003 December; 666: 387-92.
49. Dizdaroglu M. Chemical Determination of Free Radical-Induced Damage to DNA. *Free Radic Biol Med* 1991; 10(3-4): 225-42.
50. Slater TF. Free Radical Mechanism in Tissue Injury. *Biochem J* 1984 Aug 15; 222(1): 1-15.
51. Southorn PA, Powis G. Free Radical in Medecine I. Chemical Nature and Biological Reactions. *Mayo Clin Proc* 1988 Apr; 63(4): 381-9.
52. Wijnberger LD, Krediet TG, Visser GH, Van Bel F, Egberts J. Early Neonatal Antioxidant Capacity After Preexisting Impaired Placental Function. *Early Hum Dev* 2003 Apr; 71(2): 111-6.
53. Gupta P, Narang M, Banerjee BD, Basu S. Oxidative Stress in Term Small for Gestational Age Neonates Born To Undernourished Mothers: A Case Control Study. *BMC Pediatr* 2004; 4: 14.
54. Akkus İ. Serbest radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya: Mimoza yayınları; 1995. s. 3-95.
55. Ögüt S. Atay E. Yaşlılık ve Oksidatif Stres. *S.D.Ü. Tıp Fak. Dergisi*. 2012; 19(2), 68-74.
56. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease. *Biochem J* 1984 Apr; 219(1): 1-14.
57. Halliwell B, Gutteridge JM. Role of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease: An overview. *Methods Enzymol* 1990; 49(3): 577-87.
58. Kohen R. Skin Antioxidants: Their Role in Aging and in Oxidative Stress-New Approaches for Their Evaluation. *Biomed Pharmacother* 1999 May; 53(4): 181-92.
59. Kuran SB. Endometrium Kanserinde MnSOD, MPO ve NQO Gen Polimorfizmi ve Düzeyleri ile Lipid Peroksidasyon Ürünlerinin Tayini. İstanbul Üniversitesi Moleküler Tıp Anabilimdalı, Doktora Tezi, İstanbul. 2008.
60. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2002; 33: 110-8.
61. Davies KJA. Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair, and Replacement Systems. *IUBMB Life* 2000 Oct-Nov; 50(4-5): 279-89.
62. Özel Y. Ratlarda Karaciger İskemi/Reperfüzyon Hasarında Grape Seed Proanthocyanidininin Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul: 2006.

63. Yamamoto Y. Role Of Active Oxygen Species and Antioxidants in Photoaging. *Journal Of Dermatological Science*, 2001 Aug; 27(1): 1-4.
64. Braugher JM, Chase RL, Pregenzer JF. Oxidation of Ferrus Iron during Peroxidation of Lipid Substrates. *Biochim Biophys Acta* 1987 Oct; 921(3): 457-64.
65. Ripine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative Strees in Chronic Obstructive Pulmorary Disease. The Oxidative Strees Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1997 Aug; 156(2 Pt 1): 341-357.
66. Mccord JM. Human Disease, Free Radicals and the Oxidant/Antioxidant Balance. *Clin Biochem* 1993 Oct; 26(5): 351-7.
67. Reznick AZ, Cross CE, Hu ML, Suzuki YJ, Khwaja S, Safadi A. Modification of Plasma Proteins by Cigarette Smoke as Measured by Protein Carbonyl Formation. *Biochem J* 1992 Sep 1; 286(Pt2): 607-11.
68. Halliwell B, Aruoma OI. DNA Damage by Oxygen- Derived Species. Its Mechanism and Measurement in Mammalian Systems. *FEBS Lett.* 1991 Apr 9; 281(1-2): 9-19.
69. Dizdaroglu M. DNA and Free Radicals. Ellis Horwood, Chichester, UK. 1993; 19-39.
70. Totter JR. Spontaneous Cancer and its Possible Relationship to Oxygen Metabolism. *Proc Natl Acad Sci* 1980 Apr; 77(4); 1763-7.
71. Özlem I. Doğum Sürecinde ve Doğum Şekline Bağlı Oksidatif Stresin Değerlendirilmesinde Dinamik Tiyol/Disülfid Dengesinin Araştırılması. Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık tezi, Ankara: 2017.
72. Altan, N, Dinçel, A.S. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Türk Biyokimya Dergisi.* 2006; 31 (2). s. 51-6.
73. Percival M. Antioxidants. *Clinical Nutriion Insight* 1996; 1/96 Rev. 10/98.
74. Aydın A, Sayal A, Işimer A. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. Ankara: GATA Basımevi; 2001. s. 85.
75. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in Health and Disease. *J Clin Pathol* 2001 Mar; 54(3): 176-86.
76. Gökhan B. Oksidatif Stres ve Antioksidan Kapasite ile İlişkili Gen Polimorfizmlerinin Değişik Yöntemlerle Belirlenmesi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul. 2013; s105.
77. Fatima G, Das K, Mahdi AA. Some Oxidative and Antioxidative Parameters and Their Relationship with Clinical Symptoms in Women with Fibromyalgia Syndrome. *Int J Rheum Dis.* 2017 Jan; 20(1): 39-45.
78. Michael F.Holick. The Vitamin D Deficiency Pandemic: a Forgotten Hormone Important for Health. *Public Health Reviews* 2010; 32(1): 267-83.

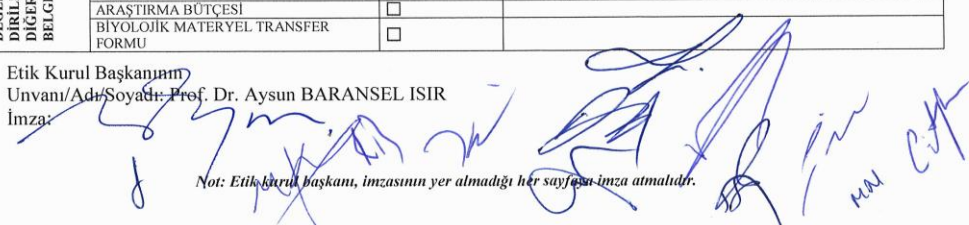
79. Norman AW. The History of the Discovery of Vitamin D and its Daughter Steroid Hormone. *Ann Nutr Metab* 2012; 61(3): 199-206.
80. Rajakumar K, Greenspan SL, Thomas SB, Holick MF. SOLAR Ultraviolet Radiation and Vitamin D: A Historical Perspective. *Am J Public Health* 2007 Oct; 97(10): 1746-54.
81. Prosser D. E, Jones G. Enzymes Involved in the Activation and Inactivation of Vitamin D. *Trends Biochem Science* 2004 Dec; 29(12): 664-73.
82. Mary Norval. A Short Circular History of Vitamin D from its Discovery to its Effects. *Res Medica*. 2005; 268(2): 56-8.
83. Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, Fechner AJ, Mady LJ. Vitamin D: Metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010 Jun; 39(2): 243-53.
84. Takeyama K, Kitanaka S, Sato T, Kobori M, Yanagisawa J, Kato S. 25-Hydroxyvitamin D₃ 1alpha-Hydroxylase and Vitamin D Synthesis. *Science*, 1997; 277(5333): P. 1827-30.
85. Weisman Y, Harell A, Edelstein S, David M, Spierer Z, Golander A. 1alpha, 25-Dihydroxyvitamin D₃ And 24,25-Dihydroxyvitamin D₃ in Vitro Synthesis by Human Decidua and Placenta. *Nature* 1979 Sep 27; 281(5729): 317-9.
86. Hewison M, Burke F, Evans K.N, Lammass D.A, Sansom D.M, Liu P, et al. Extra-Renal 25-Hydroxyvitamin D₃-1alpha-Hydroxylase in Human Health and Disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007 Mar; 103(3-5): 316-21.
87. Bikle D. Nonclassic Actions of Vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2009 Jan; 94(1): 26-34.
88. Overbergh L, Decallonne B, Valckx D, Verstuyf A, Depovere J, Laureys J, et al. Identification and Immune Regulation of 25-Hydroxyvitamin D-1-Alpha-Hydroxylase in Murine Macrophages. *Clin Exp Immunol* 2000 Apr; 120(1): 139-46.
89. Risteli J, Kleerekoper M, Risteli L. Bone and Mineral Metabolism. Ed: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. In *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 5 ed. Missouri: Elsevier; 2012. p. 1733-801.
90. Goodman SR. Hücre Sinyal İletisi Olayları. Goodman SR Editors. *Tıbbi Hücre Biyolojisi (Çeviri: Rosti RÖ)*. 3 ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2008. s. 249-72.
91. Bhagavan NV, Edlin GJ, Chung-Eun Ha, Gosnell W, Jackson CM, Lally DA. Mineral Metabolism. In Bhagavan NV, Chung-Eun Ha Editors. *Essentials of Medical Biochemistry with Clinical Cases*. 1st ed. London: Elsevier; 2011. p. 487-502.
92. Özkan B, Döneray H. D Vitamininin İskelet Sistemi Dışı Etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2011; 54 (2): 99-119.
93. Buğrul F. Süt Çocukluğu Dönemindeki Bebeklerin Annelerine Verilen D Vitamininin Çocuklardaki D Vitamini Düzeyine Etkisi. İstanbul Üniversitesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2011.

94. Cooper GM, Hausman RE. RNA Sentezi ve İşlenmesi. In Cooper GM, Hausman RE Editors. Hücre: Moleküler Yaklaşım (Çeviri: Sakızlı M, Atabey N). 3.Basım. İzmir: İzmir Tıp Kitabevi; 2006. s. 231-81.
95. Serafini M, Del Rio D. Understanding the Association between Dietary Antioxidants, Redox Status and Disease: Is The Total Antioxidant Capacity the Right Tool. Redox Report. 2004; 9(3): 145-52.
96. Bikle DD. Vitamin D: Newly Discovered Actions Require Reconsideration of Physiologic Requirements. Trends Endocrinol Metabolism 2010 Jun; 21(6): 375-84.
97. Heijboer AC, Blankenstein MA, Kema IP, Buijs MM. Accuracy of 6 Routine 25-Hydroxyvitamin D Assays: Influence of Vitamin D Binding Protein Concentration. Clin Chem 2012 Mar; 58(3): 543-8.
98. Leino A, Turpeinen U, Koskinen P. Automated Measurement of 25-OH Vitamin D₃ on the Roche Modular E170 Analyzer. Clin Chem. 2008 Dec; 54(12): 2059-62.
99. Thomas MK, Lloyd-Jones DM, Thadhani RI, Shaw AC, Deraska DJ, Kitch BT, et al. Hypovitaminosis D in Medical Inpatients. N Engl J Med. 1998 Mar; 338(12): 777-83.
100. Misra M, Pacaud D, Petryk A, Collett-Solberg PF, Kappy M, Drug and Therapeutics Committee of The Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. Vitamin D Deficiency in Children and Its Management: Review of Current Knowledge and Recommendations. Pediatrics 2008 Aug; 122(2): 398-417.
101. García AM, Villafaina S, Adsuar JC, Gusi N, Mateo DC. Effects of Dance on Pain in Patients with Fibromyalgia: A Systematic Review and Meta-Analysis. Evid Based Complement Alternat Med 2018 Sep 10; 1-16.
102. Rivera J, Tercero MC, Salas JS, Gimeno JH, Alejo JS. The Effect of Cryotherapy on Fibromyalgia: A Randomised Clinical Trial Carried Out in A Cryosauna Cabin. Rheumatol Int 2018 Oct 23; 38(12): 2243-50
103. Wacker M, Holick MF. Vitamin D-Effects on Skeletal and Extraskkeletal Health and the Need for Supplementation. Nutrients 2013 Jan; 5(1): 111-48.
104. Feng JF, Lu L, Dai CM, Wang D, Yang YH, Yang YW, et al. Analysis of the Diagnostic Efficiency of Serum Oxidative Stress Parameters in Patients With Breast Cancer at Various Clinical Stages. Clin Biochem. 2016 Jun; 49 (9): 692-8.
105. Ha HL, Shin HJ, Feitelson MA, Yu DY. Oxidative Stress and Antioxidants in Hepatic Pathogenesis. World J Gastroenterol 2010 Dec; 16(48): 6035-43.
106. Petruska JM, Mosebrook DR, Jakab GJ, Trush MA. Myeloperoxidase-Enhanced Formation of (+)-Trans- 7, 8- Dihydroxy-7,8 Dihydrobenzo[a]pyrene-DNA Adducts in Lung Tissue in Vitro: A Role of Pulmonary Inflammation in the Bioactivation of a Procarcinogen. Carcinogenesis 1992 Jul; 13(7): 1075-81.
107. Tozzi-Ciancarelli MG, De Matteis G, Di Massimo C, Marini C, Ciancarelli I, Carolei A. Oxidative Stress and Platelet Responsiveness in Migraine. Cephalalgia 1997 Aug; 17(5): 580-4.

108. Pravda J. Radical Induction Theory of Ulcerative Colitis. *World J Gastroenterol* 2005 Apr 28; 11(16): 2371-84.
109. Gecit I, Aslan M, Gunes M, Pirincci N, Esen R, Demir H et al. Serum Prolidase Activity, Oxidative Stress, and Nitric Oxide Levels in Patients with Bladder Cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012 May; 138(5): 739–43.
110. Pirinççi N, Kaba M, Geçit İ, Güneş M, Yüksel MB, Tanık S et al. Serum Prolidase Activity, Oxidative Stress, and Antioxidant Enzyme Levels in Patients with Renal Cell Carcinoma. *Toxicol Ind Health* 2016 Feb; 32(2): 193-9.
111. Saugstad OD. Update On Oxygen radical Disease in Neonatology. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2001 Apr; 13(2): 147-53.
112. Dick A, Ford R. Cholinergic and Oxidative Stress Mechanisms in Sudden Infant Death Syndrome. *Acta Paediatrica* 2009 Oct 5; 98(11): 1768-75.
113. Bozkurt M, Caglayan M, Oktayoglu P, Em S, Batmaz I, Sariyildiz MA, et al. Serum Prolidase Enzyme Activity and Oxidative Status in Patients with Fibromyalgia. *Redox Rep* 2014 Jul; 19(4): 148-53.
114. Mirzaei A, Zabihyeganeh M, Jahed SA, Khiabani E, Nojomi M, Ghaffari S. Effects of Vitamin D Optimization on Quality of Life of Patients with Fibromyalgia: A Randomized Controlled Trial. *Med J Islam Repub Iran* 2018 Apr 5; 32: 29.
115. De Carvalho JF, da Rocha Araújo FAG, da Mota LMA, Aires R.B, de Araujo RP. Vitamin D Supplementation Seems to Improve Fibromyalgia Symptoms: Preliminary Results. *Isr Med Assoc J* 2018 Jun; 20(6): 379-81.
116. Dogru A, Balkarli A, Cobankara V, Tunc SE, Sahin M. Effects of Vitamin D Therapy on Quality of Life in Patients with Fibromyalgia. *Eurasian J Med* 2017 Jun; 49(2): 113-7.
117. Igde M, Baran P, Oksuz BG, Topcuoglu S, Karatekin G. Association between the Oxidative Status, Vitamin D Levels and Respiratory Function in Asthmatic Children. *Niger J Clin Pract* 2018 Jan; 21(1): 63-8.
118. Rahsepar M, Mahjoub S, Esmaelzadeh S, Kanafchian M, Ghasemi M. Evaluation of vitamin D Status and It's Correlation with Oxidative Stress Markers in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Int J Reprod Biomed* 2017 Jun; 15(6): 345-50.
119. Anandabaskar N, Selvarajan S, Dkhar SA, Kamalanathan SK, Tamilarasu K, Bobby Z. Effect of Vitamin D Supplementation on Vascular Functions and Oxidative Stress in Type 2 Diabetic Patients with Vitamin D Deficiency. *Indian J Endocrinol Metab* 2017 Jul-Aug; 21(4): 555-63.
120. Sánchez-Domínguez B, Bullón P, Román-Malo L, Marín-Aguilar F, Alcocer-Gómez E, Carrión AM, et al. Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction and, Inflammation Common Events in Skin of Patients with Fibromyalgia. *Mitochondrion* 2015 Mar; 21: 69-75.

8. EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onay Formu

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU					
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Fibromiyalji Hastalarında Düşük Serum D Vitamini Seviyelerinin Oksidatif Hasar ile İlişkinin Araştırılması			
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		240			
#ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu			
	AÇIK ADRESİ:	Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Araştırma Merkezi Binası (GAÜNDAM) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 27310 Şehitkamil/Gaziantep			
	TELEFON				
	FAKS				
E-POSTA	etikkurul@gantep.edu.tr				
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr.Öğr. Üyesi Hakim ÇELİK			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Fizyoloji Anabilimdalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input checked="" type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma	<input type="checkbox"/>				
Diğer ise belirtiniz :					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ	ÇOK MERKEZLİ X	ULUSAL X	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ				Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLEN DİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama			
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>			
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>			
Etik Kurul Başkanı Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR İmza: 					
Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfayı imza atmaktadır.					

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Fibromiyalji Hastalarında Düşük Serum D Vitamini Seviyelerinin Oksidatif Hasar ile İlişkinin Araştırılması		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	240		
KARAR BİLGİLERİ	ILAN	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>	
	Karar No:2018 /240	Tarih: 12.09.2018	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmann/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmann/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR	ADLI TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Yasemin ZER	MIKROBİYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Özlem ALTINDAĞ	FİZİK TEDAVİ ve REHABİLİTASYON	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Muradiye NACAĞ	TIBBİ FARMAKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Birgül ÖZÇİRPİCİ	HALK SAĞLIĞI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. İlker SEÇKİNER	ÜRÖLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mehmet KESKİN	PEDİATRİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Sinan AKBAYRAM	ÇOCUK HEMOTOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ramazan BAL	FİZYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Umut ELBOĞA	NÜKLEER TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Serkan GÜRGÜL	BIYOFİZİK	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Eda Didem YALÇIN	AĞIZ DIŞ ve ÇENE RADYOLOJİSİ	Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Günay KOZAN	KBB	Gaziantep İl Sağlık Müdürlüğü	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Emine Aybuken YILDIRIM	AVUKAT (Hukukçu)	Gaziantep Barosu	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Recep TÜRK	BANKACI (Kamu Yönetimi)	Ziraat Bankası Gaziantep Bölge Yöneticisi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmaldır.

Ek-2: İntihal Raporu

ihsan tez333

ORJİNALLIK RAPORU

% 11	% 8	% 3	% 8
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	% 1
2	acikerisim.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
3	edergi.sdu.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	eryaman7noluasm.com İnternet Kaynağı	% 1
5	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	% 1
6	Submitted to Erciyes Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 1
7	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	Submitted to Harran Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1

Ek-3: Tez Veri Giriş Formu

23.01.2019

Ulusal Tez Merkezi | Tez Form Yazdır

T.C
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10231351
Yazar Adı / Soyadı	İHSAN KARABULUT
T.C.Kimlik No	19751760286
Telefon	5532271101
E-Posta	karabulut6334@hotmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	FİBROMİYALJİ HASTALARINDA DÜŞÜK SERUM D VİTAMİNİ SEVİYELERİNİN OKSİDATİF HASAR İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI
Tezin Tercümesi	INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN OXIDATIVE DAMAGE AND LOW SERUM D VITAMIN LEVELS IN PATIENTS WITH FIBROMIALGIA
Konu	Fizyoloji = Physiology
Üniversite	Harran Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Fizyoloji Anabilim Dalı
Bilim Dalı	
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2019
Sayfa	80
Tez Danışmanları	DR. ÖĞR. ÜYESİ HAKİM ÇELİK
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	FİBROMİYALJİ, D VİTAMİNİ EKSİKLİĞİ, OKSİDATİF STRES

23.01.2019

İmza: 

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: İhsan KARABULUT
Uyruğu: T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi: Şanlıurfa, 14.04.1986
E-mail: karabulut6334@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı	Bitirme Yılı
Lise:	Şanlıurfa Anadolu Lisesi	2004
Üniversite:	İstanbul Üniversitesi, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü	2012
Yüksek Lisans:	Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji A.B.D.	2019
UZMANLIK ALANI	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	
YABANCI DİL	İngilizce	