

T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MULTIPL SKLEROZ VE PARKİNSON HASTALARINDA
NEOPTERİN DÜZEYİ VE KİNÜRENİN YOLAĞININ
İNFLAMASYON VE NÖRODEJENERASYON ÜZERİNE
ETKİSİ

İrfan YAVAŞ

İleri Nörolojik ve Psikiyatrik Bilimler Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA

2023

T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MULTIPL SKLEROZ VE PARKİNSON HASTALARINDA
NEOPTERİN DÜZEYİ VE KİNÜRENİN YOLAĞININ
İNFLAMASYON VE NÖRODEJENERASYON ÜZERİNE
ETKİSİ

İrfan YAVAŞ

İleri Nörolojik ve Psikiyatrik Bilimler Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Meryem Aslı TUNCER

ANKARA

2023

**Multipl Skleroz ve Parkinson Hastalarında Neopterin Düzeyi ve Kinürenin Yolağının
İnflamasyon ve Nörodejenerasyon Üzerine Etkisi**
Öğrenci: İrfan YAVAŞ
Danışman: Prof. Dr. Meryem Aslı TUNCER

Bu tez çalışması 21/08/2023 tarihinde jürimiz tarafından "İleri Nörolojik ve Psikiyatrik Bilimler Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Bilimler Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı(Danışman): Prof. Dr. Meryem Aslı TUNCER (imza)

Hacettepe Ü.T.F Nöroloji A.B.D

Üye: *Doç. Dr. Eda Derle ÇİFTÇİ* (imza)

Başken Ü.T.F Nöroloji A.B.D

Üye: *Doç. Dr. İbrahim Halil ÖNCEL* (imza)

Hacettepe Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.B.D

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

29 Ağustos 2023

Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. (1)
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. (2)
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

10 /09/2023

Dr. İrfan YAVAŞ

¹“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

1. (1) Madde 6. 1. Lisansüstü tezle ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezimin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
2. (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezimin erişime açılması engellenebilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahfirat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Meryem Aslı TUNCER danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığımı beyan ederim.

Dr. İrfan YAVAŞ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, değerli bilgileriyle bana yol gösteren, çalışmalarımda beni cesaretlendiren sevgili danışman hocam Prof. Dr. Meryem Aslı TUNCER'e,

Nöroimmünoloji eğitimimin her aşamasında bana katkı sağlayan, başta Prof. Dr. Banu ANLAR olmak üzere tüm değerli hocalarıma,

Çalışmamda hasta seçimi ve değerlendirmesi konusunda destek olan Doç. Dr. Gül YALÇIN ÇAKMAKLI ve Öğr. Gör. Dr. Nazire Pınar Acar ÖZEN'e

Labaratuvar çalışmalarındaki yardımları ve sonuçların elde edilmesindeki destekleri için Prof. Dr. Terken BAYDAR ve Doç. Dr. Gözde GİRGİN'e

Tezime sponsor olduğu için Türk Nöroloji Derneği'ne

Yüksek lisans eğitimim sırasında bana sabır gösteren eşim Nursev ve kızım Zeynep'e,

Çok teşekkür ederim.

ÖZET

İrfan YAVAŞ. Multipl Skleroz ve Parkinson Hastalarında Neopterin Düzeyi ve Kinürenin Yolağının İnflamasyon ve Nörodejenerasyon Üzerine Etkisi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İleri Nörolojik ve Psikiyatrik Bilimler Programı. Yüksek Lisans Tezi. Ankara. 2023. Santral sinir sisteminin iki kronik nörolojik hastalığı olan multipl skleroz ve Parkinson hastalığının patogeneğinde inflamasyon ve nörodejenerasyon yer almaktadır. Pteridin ve kinürenin yolağının inflamasyon ve nörodejenerasyondaki rolünü değerlendirmek amacıyla yaptığımız bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi nöroloji kliniğine başvuran hastalar arasından, çalışmaya dahil olma kriterlerini karşılayanlardan onam alınarak üç grup oluşturulmuştur. 37 multiple skleroz, 29 Parkinson hastası ve 21 kontrolden oluşan üç grup çalışılmıştır. Multiple skleroz grubu kendi içinde primer progresif, sekonder progresif, relapsing remitting ve naif multiple skleroz hastaları olarak alt gruplara ayrılmıştır. Parkinson grubu ise idiopatik olanlar, GBA mutasyonu ve PARKN mutasyonu olanlar şeklinde alt gruplara ayrılmıştır. İdrarda neopterin, yüksek basınçlı sıvı kromatografi tekniğiyle, serum örneklerinde neopterin, triptofan, kinürenin, kinolinik asit ve kinürenik asit düzeyleri ise enzim aracılıklı immünosorban assay yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bakılan metabolitlerde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Multiple skleroz hastalığında hastalık özlülük oranı ile serum kinürenin/triptofan oranı arasında anlamlı korelasyon olduğu bu oranın idrar neopterin düzeyi ile doğru orantılı olduğu görülmüştür. Multipl skleroz grubunda hastalık özlülük oranı ile kinolinik asit düzeyi arasında da negatif yönde ilişki bulunmuştur. Parkinson hastalığı riskini etkileyen parametreler arasında kinürenin/triptofan ve neopterin düzeyi anlamlı bulunmuştur. Parkinson grubunda hoehn yahr evresi ile triptofan arasında negatif ilişki olduğu gösterilirken idrar neopterin düzeyi ile yaş arasında negatif, serum kinürenik asit ve kinolinik asit düzeyi arasında pozitif yönde korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Her iki hastalıkta ortak olarak kinürenin/triptofan oranı anlamlı olarak ilişkili çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: İnflamasyon, nörodejenerasyon, pteridinler, triptofan.

Çalışmaya destek olan kuruluş Türk Nöroloji Derneği'dir.

ABSTRACT

Yavas, I. The Effect of Neopterin Level and Kynurenine Pathway on Inflammation and Neurodegeneration in Patients with Multiple Sclerosis and Parkinson's. Hacettepe University Graduate School Health Sciences Advanced Neurological and Psychiatric Sciences Program. Master Thesis. Ankara. 2023.

Inflammation and neurodegeneration are involved in the pathogenesis of two chronic neurological diseases of the central nervous system, multiple sclerosis and Parkinson's disease. In this study, which we conducted to evaluate the role of pteridine and kynurenine pathway in inflammation and neurodegeneration, three groups were formed among the patients who applied to the neurology clinic of Hacettepe University Faculty of Medicine, by obtaining consent from those who met the inclusion criteria for the study. Three groups of 37 multiple sclerosis, 29 Parkinson's patients and 21 controls were studied. The multiple sclerosis group is subdivided into primary progressive, secondary progressive, relapsing remitting and naive multiple sclerosis patients. The Parkinson group is divided into subgroups as idiopathic, GBA mutation and PARKN mutation. Neopterin in urine was evaluated by high pressure liquid chromatography technique, and neopterin, tryptophan, kynurenine, quinolinic acid and kynurenic acid levels in serum samples were evaluated by enzyme-mediated immunosorbent assay method. There was no significant difference between the groups in the metabolites examined. It has been observed that there is a significant correlation between the disease disability rate and the serum kynurenine/tryptophan ratio in multiple sclerosis disease, and this rate is directly proportional to the urinary neopterin level. In the multiple sclerosis group, a negative correlation was found between the rate of disease disability and the level of quinolinic acid. Among the parameters affecting the risk of Parkinson's disease, the ratio of kynurenine/tryptophan and neopterin were found to be significant. While it was shown that there was a significant correlation between hoehn yahr scale and tryptophan in the Parkinson group, a negative correlation was found between urinary neopterin level and age, and a positive correlation between serum kynurenic acid and quinolinic acid levels.

Keywords: Inflammation, neurodegeneration, pteridins, tryptophan.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	lii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pteridin Metabolizması	3
2.2. Pteridinler ve İmmün Sistem İlişkisi	5
2.3. Kinürenin Yolağı ve Beyindeki Etkisi	6
2.4. Kinürenin Yolağının İmmün Regülasyondaki Rolü	7
2.5. Parkinson Hastalığı ve Kinürenin yolağı	8
2.6. Multipl Skleroz, Pteridin ve Kinürenin Metabolizması	11
3. GEREÇ ve YÖNTEM	15
3.1 Çalışma Gruplarının Tanımlanması	15
3.2. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	16
3.3. Yöntemler	17
3.3.1. Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesi	17
3.3.2. Neopterin Düzeylerinin Hesaplanması	17
3.3.3. Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Belirlenmesi	18
3.3.4. Triptofan ve Kinürenin Standart Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması	19
3.3.5. Kinolinik Asit Düzeylerinin Belirlenmesi	20
3.3.6. Kinolinik Asit Düzeylerinin Hesaplanması	20
3.3.7. Kinürenik Asit Düzeylerinin Belirlenmesi	21

3.3.8. Kinürenik Asit Düzeylerinin Hesaplanması	21
3.3.9. İstatiksel Değerlendirme	22
4. BULGULAR	24
4.1. Neopterin Düzeyleri	26
4.2. Triptofan ve Kinürenin Düzeyleri	27
4.3. Kinolinik Asit Düzeyleri	29
4.4. Kinürenik Asit Düzeyleri	30
4.5. İdrar Neopterin Düzeyleri	31
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	43
7. KAYNAKLAR	44
8. EKLER	52
8.1. Etik Kurul Onay Belgesi	52
8.2. Turnitin Orjinallik Raporu Ekran Görüntüsü	53
8.3. Turnitin Dijital Makbuz	55
9. ÖZGEÇMİŞ	56

SİMGELER ve KISALTMALAR

3-HK	3-hidroksikinürenin
6 OHDA	6-hidroksidopamin
α syn	α sinüklein
a.a	Amino asit
A.A	Antralinik asit
AhR	Aril hidrokarbon reseptör
ark.	Arkadaşları
ASH	Antijen sunan hücreler
BH₄	Tetrahidrobiopterin
BKI	Beden kitle indeksi
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CTLA₄	Sitotoksik T lenfosit antijen 4
DH	Dendritik hücreler
DHPR	Dihidropteridin redüktaz
DOPA	Dihidroksifenilalenin
DM	Diyabetes mellitus
EAE	Deneyisel alerjik ensefalit
EDSS	Expanded Disability Status Scale
(eIF)2α	eukaryotic initiation faktör 2 α
ELISA	İmmun aracılıklı immünosorban assay
ER	Endoplazmik retikulum
FLC	Lambda hafif zincir
(Fox)p3⁺	Forkhead box 3
GBA	Glukoserobrozidaz mutasyonu
GCase	Glukoserobrozidaz
GCN	General control nonderepressible 2
GH	Gaucher hastalığı
GTP	Guanozintrifosfat
GTPCH	Guanozintrifosfat siklohidrolaz
HIOMT	Hidroksi indol O-metil transferaz

IFNγ	İnterferon γ
IDO	İndolamin 2,3-dioksijenaz
KAT-1	Kinürenin amino transferaz
KH₂PO₄	Potasyum hidrojen fosfat
KY	Kinürenin yolağı
Kyn	Kinürenin
KYNA	Kinürenik asit
LPS	Lipopolisakkarit
MDM_s	Monositten dönüşen makrofajlar
MPTP	Metil fenil tetrahidropridin
MS	Multipl skleroz
mTOR	mammalian target of rapamycin
NAD⁺	Nikotinamid adenin dinükleotid
NAS	N-asetilseratonin
NAT	N-asetiltransferaz
NK	Doğal öldürücü hücreler
NMDA	N-metil-D-aspartat
NO	Nitrojen monoksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
OCB	Oligoklonal bant
OR	Otozomal resesif
PAH	Fenilalenin hidroksilaz
PARK2	Parkin
PCD	Pteridin 4-alfa-karbinolamin dehidrataz
PH	Parkinson hastalığı
Phe	Fenilalenin
PPMS	Primer progresif multipl skleroz
PRKN	Parkin mutasyonu
PTPS	6-pürivoyil tetrahidropterin sentaz
QDPR	Kuinolinat fosforibozil transferaz
QUIN	Kinolinik asit
RRMS	Relapsing-remitting multipl skleroz

SLE	Sistemik lupus eritamatozus
SNpc	Substantia nigra pars compacta
SPMS	Sekonder progresif multipl skleroz
SSS	Santral sinir sistemi
STING	İnterferon gen stimülatörü
TH	Tirozin hidroksilaz
TLR	<i>Tool like receptor</i>
TMB	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin
TNFα	Tümör nekroz faktör alfa
TPH	Triptofan hidroksilaz
Treg	Regulatuvar T hücre
Trp	Triptofan
Try	Tirozin
UNCR	İdrar neopterin kreatin oranı
vb.	Ve benzeri
YBSK	Yüksek performanslı sıvı kromatografi

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.1.	Pteridinlerin kimyasal yapısı.	4
2.2.	Pteridin biyosentezi ve ilgili enzim sistemleri.	4
2.3.	İmmün sistem aktivasyonu ile neopterin biyosentezi.	5
2.4.	Kinürenin yolağı.	6
2.5.	IDO yolağının immün regülasyon etkisi.	9
3.1.	Neopterin kalibrasyon eğri örneğı.	18
3.2.	Triptofan (12,5 μ M) ve kinürenin (2.5 μ M) standartlarına (A) ve serum örneğine (B) ait kromatogramlar.	19
3.3.	Triptofan (A) ve kinürenin (B) standartlarına ait kalibrasyon doğruları.	20
3.4.	Kinolinik asit kalibrasyon eğri örneğı.	21
3.5.	Kinürenik asit kalibrasyon eğri örneğı.	22
4.1.	Gruplara göre serum neopterin düzeyleri.	27
4.2.	Serum triptofan düzeylerinin gruplara göre dağılımı.	28
4.3.	Serum kinürenin düzeylerinin gruplara göre dağılımı.	28
4.4.	Serum Kyn/Trp oranlarının gruplara göre dağılımı.	29
4.5.	Serum kinolinik asit düzeylerinin gruplara göre dağılımı.	30
4.6.	Serum kinürenik asit düzeylerinin gruplara göre dağılımı.	30
4.7.	İdrar neopterin düzeylerinin gruplara göre dağılımı.	32
4.8.	MS grubu idrar neopterin düzeyi-Kyn/Trp arasındaki korelasyon.	37
4.9.	PH grubunda idrar neopterin-KYNA arasındaki korelasyon.	37
4.10.	PH grubunda idrar neopterin- QUIN (QA) arasındaki korelasyon.	38

TABLolar

Tablo		Sayfa
4.1.	Gruplara göre bazı nicel parametrelerinin karşılaştırılması.	24
4.2.	Gruplar ile genel özellikler arasındaki ilişkilerin incelenmesi.	25
4.3.	Hastalıklara göre kullanılan ilaçların dağılımı.	26
4.4.	Serum neopterin düzeylerinin gruplara göre ortalama değerleri.	27
4.5..	Gruplara göre Kyn, Trp, Kyn/Trp ortalama değerleri.	27
4.6	Gruplara göre serum kinolik asit düzeyleri.	29
4.7.	Serum kinürenik asit ortalamalarının gruplara göre dağılımı.	31
4.8.	İdrar neopterin düzeylerinin gruplara göre dağılımı.	31
4.9.	Gruplara göre serum laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.	32
4.10.	MS alt gruplarına göre laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.	33
4.11.	PH alt gruplarına göre laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.	34
4.12.	PH risk durumu baz alınarak kurulan Lojistik Regresyon modeli.	34
4.13.	Hastalık evresi ile metabolik ölçümler arasındaki ilişki.	35
4.14.	MS alt gruplarının idrar neopterin düzeylerinin dağılımı.	36
4.15	PH alt gruplarında idrar neopterin düzeylerinin dağılımı.	36

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Pteridinler, pirimidin ve pirazin halkalarının birleşmesinden oluşmuştur. Konjuge pteridinler ve konjuge olmayan pteridinler olarak iki gruba ayrılır. Konjuge pteridinler folik asit serilerinde yer alır. Konjuge olmayan pteridinler arasında ise biopterin, tetrahidrobiopterin (BH₄) ve neopterin vardır (1). Birçok organizmada sentezlenen pteridinler, pigment, enzimatik kofaktör, immün sistem aktivasyon molekülü olarak çalışırlar (2).

İmmün sistem, patojen varlığında, doku hasarında veya inflamasyon ile aktive olur. İnflamasyon sürecinde immün hücreler arasında sinyal iletimi için sitokinlere ihtiyaç vardır (2). Hücrel immün yanıtta rol alan T hücrelerin ürettiği sitokinlerden biri de interferon γ (IFN γ)'dır. IFN γ sinyali, makrofaj ve dendritik hücrelerde neopterin üretimini artırmaktadır (3). IFN γ bunu şu şekilde yapmaktadır: Guanozintrifosfat (GTP) hidroksilasyonu ile pteridin oluşumundaki hız kısıtlayıcı enzim olan guanozintrifosfat siklohidrolaz (GTPCH)'ı 100 kat uyardır. Böylece neopterin ve BH₄ artışı olmaktadır (4). BH₄ tirozin, fenilalenin, triptofan hidroksilasyonunda kofaktör olarak gereklidir (5). Pteridin gerektiren bu enzimler üzerinden dopamin, norepinefrin, epinefrin, serotonin ve melatonin gibi nörotransmitterlerin düzeyi etkilenir (6). Nörotransmitter üretiminde kullanılmayan triptofan (Trp) kinürenine yıkılır. Bu katabolizmayı sağlayan indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) enzimidir. IDO için kofaktör yine BH₄'dir. IFN γ IDO enzimini de stimüle ederek triptofan degradasyonu yaparken aynı anda neopterin salınımına da neden olmaktadır (7-10). IFN γ seviyesinin yükselmesi ile neopterin artışı, otoimmün hastalıklarda neopterin biyobelirteç olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır (11,12).

Santral sinir sisteminin (SSS) otoimmün hastalıklarından olan multipl skleroz (MS), inflamasyon, demiyelinizasyon, belli oranda aksonal ve nöronal hasarlanma ile karakterize kronik bir hastalıktır (13). SSS'deki miyelin kılıfına karşı otoreaktif lenfositlerin patogeneze önemli rol oynadığı bilinmektedir (14). Patogenezi oldukça farklı olan Parkinson hastalığında (PH) ise nörodejenerasyona eşlik eden inflamasyon mevcuttur. Yaşlanma ile nörodejenerasyonun artışı, inflamasyonun ve IDO aktivitesinin artışı ile ilişkili olabilir (15,16). PH patogeneziyle ilgili güncel

hipotezler protein yanlış katlanması ve agregasyonu, mitokondriyal hasar, oksidatif stres yanısıra nöroinflamasyonu sorumlu tutmaktadır (17-18).

Bu tez çalışmasında, patogenezinde farklı inflamasyon mekanizmalarının rol oynadığı iki kronik nörolojik hastalık grubunda, MS ve PH'de, pteridin ve kinürenin yolağı değerlendirilmiştir. Biyolojik sıvılarda mevcut pteridin, triptofan, kinürenin ve metabolitlerinin ölçümü için serum ve idrar örnekleri kullanılmıştır. Bu örnekler elde edilirken MS, PH ve kontrol olmak üzere üç grup oluşturulmuştur. Bu gruplar kendi aralarında alt gruplara ayrılmıştır. MS grubu; primer progresif MS (PPMS), sekonder progresif MS (SPMS) ve ataklarla seyreden relapsing-remitting form MS (RRMS) olmak üzere üç alt gruba ayrılmıştır. PH ise inflamasyonun derecesine göre parkin mutasyonu olan (PRKN), glukoserebrozidaz mutasyonu olan (GBA) ve idiopatik PH olarak üç alt gruba ayrılmıştır. Bu üç grupta inflamasyon derecesi, patogeneizde α sinüklein patolojisinin ne kadar rol aldığına göre değişmektedir. PRKN grubunda α sinüklein daha az rol alırken, GBA grubunda daha fazla rol almakta ve daha fazla nöroinflamasyon olması beklenmektedir. Her üç ana gruba toplam 82 kişi alınmıştır. Kişiler, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Kliniği nöroimmünoloji ve hareket bozukluğu polikliniklerine başvuran hastalar ve onların sağlıklı refakatçileri arasından çalışmaya katılma kriterlerine uygun olanlar arasından seçilmiştir. Görüşmelerden sonra Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onayı ile aydınlatılmış onam formlarına göre serum ve idrar örnekleri toplanmıştır. İdrar neopterin/kreatin oranı, serum neopterin, triptofan, kinürenin, kinürenik asit ve kinolinik asit düzeyleri floresans ve ultraviyole dedektörleri kullanılarak yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve enzim aracılıklı immünosorban assay (ELISA) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada; SSS'nin nöroinflamatuvar ve nörodejeneratif grupta olan iki farklı hastalığında pteridin ve kinürenin yolağının rolü araştırılmıştır. Çalışma öncesinde iki hastalık grubu arasında sonuçların birbirine benzer, kontrol grubundan ise farklı olacağı varsanılmıştır. Ölçümler ile nöroinflamasyon ve nörodejenerasyon arasındaki ilişki değerlendirilmesi planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pteridin Metabolizması

Pteridinler, birbirine geçmiş pirazin ve pirimidin halkalarından oluşan bisiklik aromatik yapılardır. 2. ve 4. pozisyonda amino ve karbonil grubu sergileyenler pterinler olarak isimlendirilir (2). Prokaryot ve ökaryotların her ikisinde de GTP'ın GTPCH ile etkileşimi ile oluşurlar (19). İlk kez 1889 yılında Gowland Hopkins tarafından kelebeklerin kanatlarında, renk veren pigment olarak keşfedilmiştirler (20-1). Yunan kültüründe kanat anlamına gelen “*Pteron*” kelimesinden esinlenerek isimlendirilmiştirler (21). Sadece pigment olarak değil aynı zamanda nükleik asit, aminoasit, nörotransmitter, nitrojen monoksit (NO) sentezinde enzimler için ko-faktör ve immün sistem aktivasyon molekülü olarak da çalışırlar (2).

Pteridinler konjuge olan ve konjuge olmayan pteridinler olarak iki sınıfa ayrılır. Konjuge pteridinler folik asit serilerinde yer alır. Konjuge olmayan pteridinler ise 6.pozisyondaki hidroksi ya da polihidroksi grubuna göre; biopterin, neopterin, tetrahidrobiopterin gibi isimler alır (1). Pteridinlerin kimyasal yapıları aşağıdaki şekilde görülmektedir (Şekil 2.1).

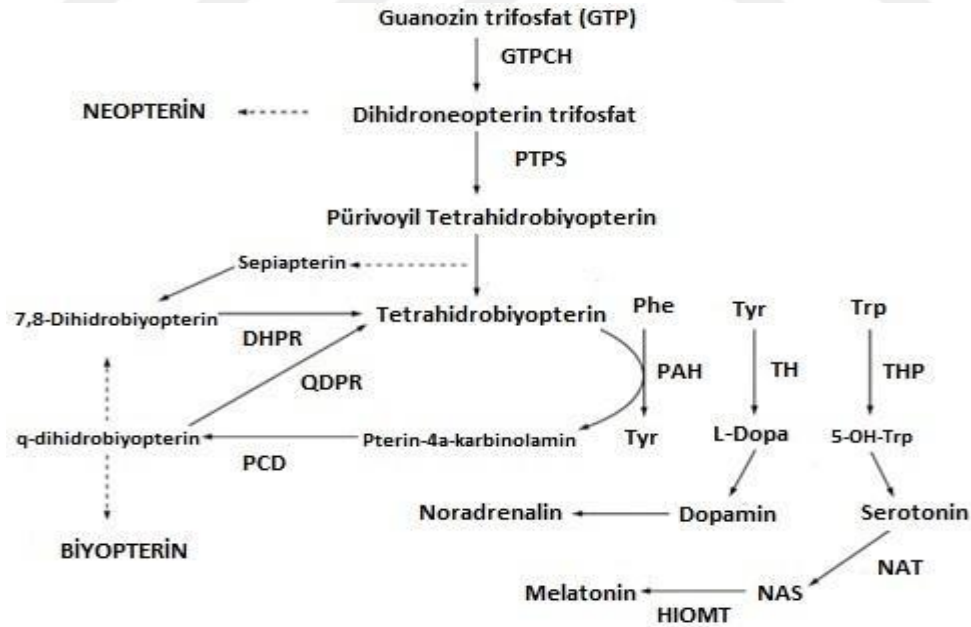
Konjuge olmayan pteridinler aktif olarak memeliler tarafından sentezlenir. Biyosentez GTP ile başlar. GTPCH ile parçalanarak 7.8 dihidroneopterin trifosfata dönüşür. Bu molekül sırasıyla 6-piruvoyiltetrahidropterin sentaz ve sepiapterin reduktaz tarafından tetrahidrobiopterine (BH₄) dönüşür (23). BH₄, pteridin gerektiren enzimler için hidroksilasyon ko-faktörüdür. BH₄ stabil bir form olmadığı için konjuge olmayan pteridinlerin katabolizma yolağını açıklamak zor olmuştur. Ana metabolitler neopterin ve biopterindir. Neopterin, GTP'ın GTPCH aracılığıyla dönüştüğü dihidroneopterin trifosfatın defosforilasyonu ile ortaya çıkar. Biopterin, BH₄ oksidasyonu ile sentezlenir (24). Pteridin biyosentezi şekil 2.2 ile gösterilmiştir.

İlk defa 1963 yılında Kaufman tarafından, BH₄'in fenilalanin hidroksilasyonunda (PAH) ko-faktör olarak rol aldığı gösterilmiştir (1). BH₄ kan fenilalanin seviyelerinin regülasyonu için çok önemlidir. Pteridine ihtiyaç duyan diğer enzimler; tirozin hidroksilaz (TH), triptofan hidroksilaz (TPH), nitrik oksit sentaz (NOS) dır. TH, tirozini dihidroksifenilalanin (DOPA)'ya dönüştürür. DOPA

daha sonra dopamin, norepinefrin ve epinefrin biyosentezinde kullanılır. Beyinde dopamin,

AromatikPterinler		
Bileşik	R ₁	R ₂
Pterin	H	H
6-Metilpterin	CH ₃	H
6-Hidroksimetilpterin	CH ₂ OH	H
Pterin-6-karboksilat	COO ⁻	H
Pterin-7-karboksilat	H	COO ⁻
6,7-Dimetilpterin	CH ₃	CH ₃
6-Formilpterin	CHO	H
Biyopterin	CHOHCHOHCH ₃ (6-L-eritro)	H
Monapterin	CHOHCHOHCH ₂ OH (6-L-treo)	H
Neopterin	CHOHCHOHCH ₂ OH (6-D-eritro)	H
7-Biyopterin	H	CHOHCHOHCH ₃ (7-L-eritro)
7-Neopterin	H	CHOHCHOHCH ₂ OH (7-D-eritro)

Şekil 2.1 Pteridinlerin kimyasal yapısı (22)

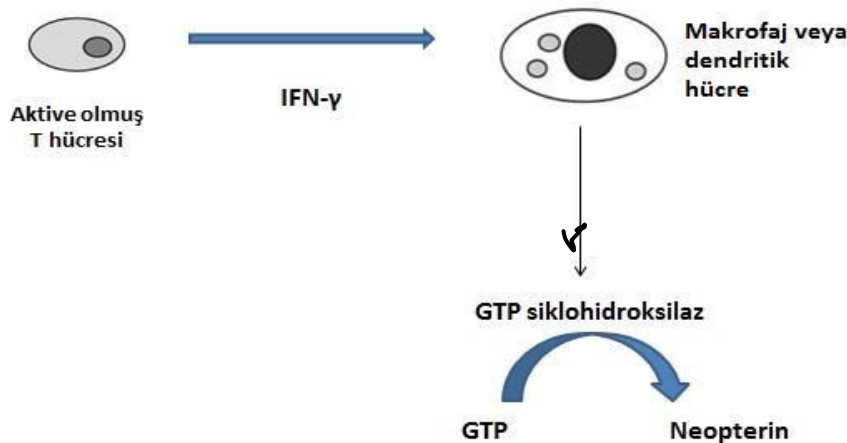


Şekil 2.2. Pteridin biyosentezi ve ilgili enzim siteleri. GTPCH: guanozin trifosfat siklohidrolaz, PTPS: 6-pürivoyil tetrahidropterin sentaz, DHPR: dihidropteridin redüktaz, QDPR: kuinolinat fosforibozil transferaz, PCD: pteridin 4-alfa-karbinolamin dehidrataz, Phe: fenilalanin, PAH: fenilalanin hidroksilaz, Try: tirozin, TH: tirozin hidroksilaz, Trp: triptofan, THP: triptofan hidroksilaz, NAT: N-asetiltransferaz, NAS: N-asetilserotonin, HIOMT: hidroksi indol O-metil transferaz. (25)

norepinefrin, epinefrin nöronlarında sentezlenir. Nörotransmitter olarak çalışırken periferde sempatik nöronlarda norepinefrin çalışır. Adrenal medullada ise epinefrin ve norepinefrin hormon olarak çalışır. TPH, triptofandan (Trp) indolamin sentezler. Bunlar seratonin ve melatoninidir. Seratonin beyinde nörotransmitter, mast hücrelerinde hormon olarak çalışır. Melatonin pineal glandda hormon görevindedir (Bkz. Şekil 2.2.) PAH, fenilalenin hidroksilasyonu ile tirozine daha sonra da CO₂ ve H₂O'ya dönüşür. NOS, arjininden nitrik oksit sentezinde rol alır (6).

2.2. Pteridinler ile İmmün Sistem İlişkisi

1979 yılından itibaren malign hastalıklarda, pteridin metabolitlerinin, özellikle neopterinin idrarla atılımının arttığı ile ilgili yayınlar çıkmaya başlamıştır. Bu yayınlar neopterin, immün sistem stimülasyonunun potansiyel bir belirteci olabileceğine dikkat çekmiştir (8). Neopterin, aktive olmuş makrofaj, monositlerde GTPCH aracılığıyla GTP'den üretilir. GTPCH hız kısıtlayıcı enzimdir. Doğal öldürücü (NK) hücreler ve T hücrelerin ürettiği IFN γ , tümör nekroz faktör (TNF α) ve lipopolisakkaritler GTPCH enzimini indükleyerek neopterin üretimini artırır (21-26). Bu sebeple neopterin hücre aracılıklı immünitenin önemli bir biyogöstergesidir (27). Neopterin sadece insan ve primatların aktive olmuş makrofajlarında üretilir, buradan plazmaya ve daha sonra idrara geçer (28). İmmün sistem aktivasyonu ile neopterin sentezi Şekil 2.3. ile gösterilmiştir.

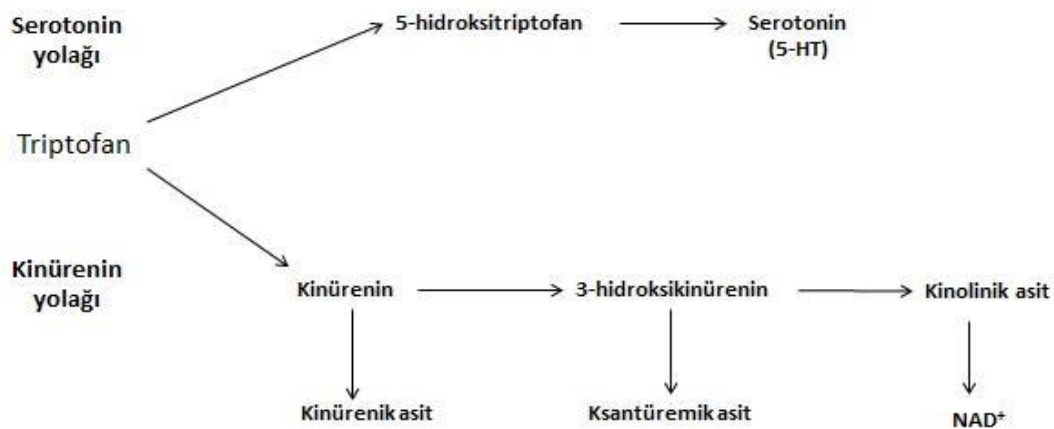


Şekil 2.3. İmmün sistem aktivasyonu ile neopterin biyosentezi (25).

Serum neopterin düzeyi sağlıklı kişilerde 2.6-8.7 nmol/L arasındadır (29). Neopterin sadece idrar ile atılır. Ortalama atılan miktar $1.58\mu\text{mol}/1.2\text{L}/\text{gün}$ 'dür. Neopterin klerensi ise sağlıklı bireylerde, 225ml/dk olarak hesaplanmıştır (27). İdrar su içeriği gün içinde aktiviteye göre değiştiği için, idrar neopterin profili kreatine oranlanarak, beraber değerlendirilir (30).

2.3. Kinürenin Yolağı ve Beyindeki Etkisi

Neopterin üretimini indükleyen IFN γ aynı zamanda triptofan yıkımını da indükler. Triptofan protein sentezinde kullanılır ya da TPH ile serotonine dönüşür. Senteze katılmayan Trp, kinürenin (Kyn) yolağıyla katabolizmaya uğrar (9, 31). IFN γ , makrofaj ve diğer hücrelerde Trp'ı katabolize eden indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) enzimini indükler (32). Trp düzeyi düşerken Kyn düzeyi artar. IFN γ 'nın, zararlı patojenlerin konakçıda yaşaması için gerekli olan Trp'ı IDO aracılığıyla tüketmesi, organizmanın enfeksiyonu baskılamaya yönelik immün aktivitesinin bir parçasıdır. IDO kinürenin yolağı (KY) ile immün sistemin düzenlenmesine katkı sağlamaktadır (33-4). Kyn/Trp oranı IDO aktivitesini gösterir. Enfeksiyon, kanser, otoimmün hastalıklar gibi birçok patolojide neopterin artışı ile Kyn/Trp oranındaki artış doğru orantılı bulunmuştur (35-7). Neopterin ve Kyn/Trp oranı arasında bulunan bu ilişki, endojen IFN γ üretimi ile bağlantılıdır (38). Kanser, enfeksiyon, nörolojik hastalıklar, depresyon, anksiyete, multipl skleroz, romatoid artrit gibi hastalıklarda KY aktivitesi artar (39). KY Şekil 2.4 ile gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Kinürenin yolağı (25).

Kinürenin yolak metabolitleri birçok fizyolojik durumda rol almaktadır. Hem beyin hem periferde, hücre içi veya hücre dışı reseptörlere etki ederler. Glutamat veya nikotinik asetilkolin reseptör aktivitesini değiştirerek eksitator nörotransmisyonu etkileyebilirler (40). Etraflarındaki immun hücrelerde aril hidrokarbon reseptör transkripsiyonunda rol alarak immün yanıtlara etki edebilirler (41). KY son ürünü nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺) enerji metabolizması ile ilişkili önemli bir ko-faktördür (42). Beyinde astrosit ve mikroglialarda, KY metabolitlerinin çoğu 3-hidroksikinürenin (3-HK) sentezler (43). Sağlıklı hücrelerde 3-HK, serbest radikaller üreterek nördjenerasyon ve nöronal apoptozise sebep olur (44). Etkilenmiş hücrelerde 3-HK kinüreninaz ile kinolinik aside (QUIN) dönüşür. QUIN, nörotoksite ve nöronal disfonksiyonda potasyel bir role sahiptir (45). Kyn, kinürenik asite (KYNA) dönüştüğünde ise bu metabolit, QUIN ve diğer eksitotoksinlerin etkisini durdurucu bir rol oynar (43-4). Kyn'in birbirine zıt etkisi olan bu iki metabolitin oranı, glutamaterjik iletiyi ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri aracılığıyla gerçekleşen eksitotoksiteye karşı koruyucu etkiyi değiştirir. Bu bulgular KY fizyolojik durumlarda önemli role sahip olduğunu gösterir (46).

2.4. Kinürenin Yolağının İmmün Regulasyondaki Rolü

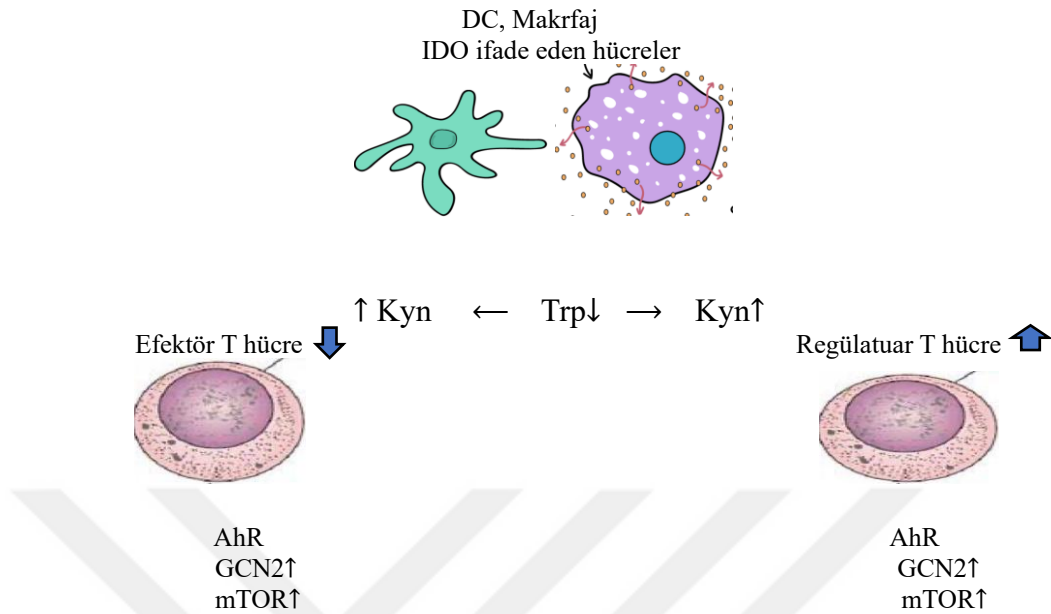
Kinürenin yolağındaki (KY) hız kısıtlayıcı enzim olanIDO metabolik immün regülasyona katkıda bulunur. Bunu iki şekilde yapar. 1) Kyn üretir, sekrete edilen Kyn komşu T hücrelerde aril hidrokarbon reseptör (AhR) üzerinden etki eder. 2) Trp seviyesini azaltarak, amino asit (a.a) düzeyine duyarlı sinyal iletim yollarını tetikler (47). Trp eksikliğinin yanısıra Kyn gibi metabolitlerin apoptotik etkileriyle, patojenlerin çoğalmasının yanı sıra T hücrelerin mitojen stimülasyona cevabı da inhibe edilir (48). Trp seviyesinin düşmesi dendritik hücrelerin (DH) fonksiyonları üzerinde de önemli etkiye sahiptir. DH olgunlaşma derecesine göre lenfositlerin antijene yanıtını aktive edebilir ya da sunulan antijene toleransı indükleyebilir. Çalışmalarda sitotoksik T lenfosit antijen 4 (CTLA4)'ün dendritik hücrelerdekiIDO ekspresyonunu IFN γ ile artırdığı ve onları tolerojenik DH'e dönüştürdüğü gösterilmiştir (49).

Farklı hücrelerdeIDO ifade etme potansiyeli olmasına rağmen, bu özellik antijen sunan hücreler (ASH) olan DH, makrofaj, B hücre ile sınırlandırılmıştır. Bu

hücreler inflamatuvar sitimulusta hızlı ve yüksek seviyedeIDO ifade ederler (50). Oluşan Kyn, AhR üzerinden immün süpresif etki ortaya çıkarır. Forkhead box (Fox)p3⁺ T regulatuvar (Treg) hücreye dönüşümü artırır (51). Bununla birlikte antitümör immün yanıtı baskılar (52) ve DH'in immün yanıt geliştirme özelliğini azaltır (53).IDO'nun ikinci etkisi Trp düzeyini düşürerek, amino asit (a.a) düzeyine duyarlı GCN kinaz (general control nonderepressible 2) ve mTOR (mammalian target of rapamycin) yolaklarını tetikleyerek immün regülasyon etki göstermesidir. GCN kinaz aktive olduğunda, (eIF)2 α (eukaryotic initiation faktör 2 α) fosforile olur ve birçok mRNA türünün ribozomal translasyonunu bloke eder (54). CD8⁺ T hücrelerinde hücre siklusunu durdurur ve fonksiyonel enerjiye neden olur (55). CD4⁺ T hücrelerinde ise GCN2, proinflamatuvar Th17 farklılaşmasını bloke eder, Treg farklılaşmasını de nova sağlar ve matur Treg hücrelerin süpresör etkisini aktive eder (56-9). Böylece Th17 yolu süprese olurken, Treg farklılaşması ve aktivitesi artarak, Treg/Th17 dengesi, Treg lehine bozulmuş olur (58). mTOR yolağı da a.a seviyesi düşünce aktive olur ve Treg ve efektör T hücreleri üzerinden inflamatuvar durumu inhibe eder (59).IDO yolağının immün regülasyon etkisi Şekil 2.5.'de özetlenmiştir. IDO aktivitesi yaşlandıkça artar. Yaşlanma ile ilişkili hastalıklarda, düşük grade inflamasyon ve IDO aktivitesindeki artışın katkıda bulunduğu kanıtlanmıştır (60). İnflamasyonun yaşla artışı, KY aktivitesini güçlendirerek, fazla QUIN üretimi ile nörodejenerasyona katkıda bulunuyor olabilir (61). Bu sebeple Parkinson hastalığı (PH) gibi nörodejeneratif hastalıklar yaşlanma ile artar (62-72).

2.5. Parkinson Hastalığı ve Kinürenin Yolağı

Parkinson hastalığı (PH) kronik nörodejeneratif bir hastalıktır. Sunstantia nigra pars compactada (SNpc) nöron kaybı ile sonuçlanır. Bazal ganlionlardaki dopamin eksikliği parkinsonizmin motor semptomları ile karakterize hareket bozukluğuna yol açar (73). SNpc içindeki dopaminerjik nöronlardaki bozulma, intrastoplazmik, eosinofilik, alfa sinüklein içeren *Lewy body* isimli cisimciklerin birikimi ile karakterizedir (74). PH patogenezi için önerilen güncel hipotezler, protein yanlış katlanması ve agregasyonu, mitokondriyal hasar, oksidatif stres ve inflamasyondur (18,75). Patolojisinde hem apoptoz hem otofaji görülür (76).



Şekil 2.5. IDO yolacağının immün regülasyon etkisi.

Parkinson hastalığı (PH) etyolojisinde gen mutasyonlarının fonksiyonunun anlaşılması, herediter formlarda yeni yollara ışık tutmuştur. Bunlardan PINK1 (PARK6) ve Parkin (PARK2) otozomal resesif (OR) parkinsonizme neden olurlar (77). PINK1 ve Parkin mitokondri kalite kontrolünde beraber çalışırlar ve parkinsonizmi önlerler. Parkin ubiquitin ligaz aktivitesi mitokondrilerde otofajide rol alır. PINK burada Parkin'in fosforilasyonunda ve yer değıştirmesinde yardımcı olur. Mutasyon durumunda hasarlı mitokondiler otofaji yoluyla ortadan kaldırılamadığından, mitofajideki yetmezlik serbest oksijen radikallerinin ortamdan uzaklaştırılmaması ile oksidatif strese artışa neden olarak nörodejenerasyona ve PH'ına sebep olur (78-9).

Son zamanlarda mitofaji ile ilgili yapılan çalışmalarda Parkin ve PINK1 mutasyonu ya da eksikliği olan farelerde mtDNA polimeraz defekti tespit edilmiştir. Parkin mutasyonu olan farelerde, patojenlere karşı koruyucu ve adaptif immünite aktivasyonunda santral rol oynayan, interferon genlerinin stimülatörü (STING) kaybına bağılı inflamasyonda artış görülmüştür. Parkin ve PINK1 mitofaji ile inflamasyon ve nörodejenerasyondan koruyucu bulunmuştur (80).

Parkinson hastalığında genetik faktörler yatkınlık yaratsa da çevresel faktörler, yaşlanma ve immün durum hep beraber inflamasyonu tetikler. PH'da yapılan çok sayıda çalışmada substantia nigra'da IFN γ ve inflamatuvar sitokinlerin seviyesinin yükseldiği gösterilmiştir (81). T lenfosit ve mikroglialar tarafından üretilen IFN γ , dopaminerjik nöronları koruyucu etki gösteriyor olabilir. MPTP ile indüklenen Parkinson modellerinde IFN γ 'nın önemi kaydedilmiştir (82).

Klinik gözlemler ve çalışmalarla ortaya çıkan bir diğer risk faktörü glukoserebrozidaz (GCCase) mutasyonudur (83-5). Glukoserebrozidaz enzimi GBA geni tarafından kodlanan lizozomal hidrolaz enzimidir. OR eksikliğinde Gaucher hastalığı (GH) ortaya çıkar. Üç tipi vardır: tip 1 non-nöronopatik, tip 2 akut nöronopatik, tip 3 ise kronik nöronopatiktir (86). Bu mutasyonlar GH yanında PH için de risk faktörü oluşturur. GCCase, mutasyon sonucu, hatalı sinüklein molekülleri endoplazmik retikulum (ER)'dan lizozoma taşınmaz, ER'da birikir ve lizozom fonksiyonunun ortaya çıkmaması PH ile ilişkilidir. GCCase enzim aktivitesi ve lisosoma transportunun azalması sinükleinopatiler için risk faktörüdür (87). PH grubu ile sağlıklı bireyleri karşılaştıran çalışmalarda beyin dokusunda (88-9), beyin omurilik sıvısı (BOS)'da (90) ve kanda (91) GCCase seviyesinin düşük olduğu bulunmuştur. Pluripotent kök hücreden elde edilen nöronal modellerde, GCCase inhibitörleri ile tedavide sinüklein agregatlarında artış olduğu görülmesi ile GBA mutasyonu ile PH ilişkisinin altında sinükleinopati olduğu düşünülmüştür (92).

Sinüklein ile doğal immün sistem arasındaki bağlantı için çok sayıda kanıt vardır. İnsan astrosit ve makrofaj kültürlerinde lipopolisakkarit (LPS) ve IL1 β stimülasyonu sonrası sinüklein ifadesinin arttığı gösterilmiştir (93). Nöronlardan salınan sinüklein *tool like receptor* (TLR) agonist etki eder (94). Son çalışmalarda α sinükleinin PH'da Th ve CD8⁺ T hücre aktivasyonuna etki ettiği, adaptif ümmünitede de rol aldığı öne sürülmüştür (95).

Parkinson hastalığında QUIN seviyesinin artması, α sinüklein (α syn) birikimine neden olan metabolik birikimlerde ve nöronal toksite gelişiminde rol alır (96). Aksine Alzheimer hastalığı ve PH'da BOS KYN A düzeyinin düşük olduğu bulunmuştur (97). Metil fenil tetrahidropridin (MPTP) ve 6 hidroksidopamin (6 OHDA) PH modellerinde toksiteden kinürenin amino transferaz (KAT-1) ve KYN A aktivitesindeki düşmenin sorumlu olduğu gösterilmiştir (98). 2017 yılında yapılan bir

çalışmada PH'da Trp seviyesinin düştüğü, Kyn, Kyn/Trp, antralinik asit (A.A) ve KYNA değerlerinin kontrollerden yüksek olduğu gösterilmiştir (99). Yakın tarihte yapılan çalışmalarda ise PH'da QUIN/KYNA oranı ve QUIN seviyesi yüksek bulunmuştur (100-1). Bu sonuçlar PH'daki nörodejenerasyonda inflamasyonun da katkısı olabileceğini desteklemektedir.

2.6. Multipl Skleroz, Pteridin ve Kinürenin Metabolizması

İnflamasyonun patogeneizde önemli rol aldığı hastalıklardan birisi de MS hastalığıdır. MS, genetik ve çevresel etmenlerin rol aldığı kronik inflamatuvar demiyelinizan nörodejeneratif otoimmün bir hastalıktır (102). MS hastaları sıklıkla ataklarla- relapsing remitting hastalık gidişi (RRMS) ve yıllar içinde progresif sürece geçiş (SPMS) gösterir. Bazı hastalarda ise, ataklı dönem görülmeden progresif süreç görülür (PPMS) (103). Klinik ve patolojik olarak MS plakları Charcot, Carswell ve Cruveilhier'den günümüze incelenmiş ve MS etyopatogenezi hala netlik kazanmamıştır (104). MS'de, demiyelinizan plakların oluşumunda hücrel immün aktivasyonun tetikleyici olarak görev yaptığı bilinmektedir. Neopterin düzeylerinin bu hastaların atak dönemini değerlendirmede objektif bir laboratuvar bulgusu olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (105).

Bugüne kadar MS hastalarında yapılan çalışmalarda idrar neopterin düzeyinin progresyon ve ataklarla arttığı gösterilmiştir (106). Bagnato F. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise MS klinik relaps sırasında neopterin üriner atılımı yüksek bulunurken, kan seviyeleri klinik ve magnetik rezonans (MR) ölçümleri ile korele bulunmamıştır (107). Anlaşılmaktadır ki; MS'de neopterin değerlendirilmesinde tartışmalı sonuçlar bulunmuştur. MS'de inflamasyon belirteci olarak idrarda neopterin düzeyine bakılan başka bir çalışmada, yorgunluk ve inflamasyon arasındaki ilişki araştırılmıştır. İlginç olarak bu çalışmada PPMS grubundaki hastalar daha az yorgun çıkarken, inflamasyon ve yorgunluk arasında direk ilişki bulunmamıştır (108).

Multipl skleroz hastalarında tedavi yanıtını değerlendirmek için idrar neopterin düzeyini çalışan araştırmalar da yapılmıştır. Rejdak K. ve ark. PPMS hastalarında IFN beta-1a tedavisi alanları, kontrol grubuyla karşılaştırarak 24 ay boyunca, idrar neopterin ve nitrik oksit metabolit atılımını takip etmişlerdir. Sonuçta,

IFN beta-1a tedavisi alan ve *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) skoru stabil olan MS hastalarında idrar neopterin/kreatin oranı (UNCR), progresyon gösterenlerle karşılaştırıldığında anlamlı yüksek bulunmuştur. Üriner neopterin IFN beta1a tedavisini PP-MS de etkilerini monitörize etmede potansiyel bir biyobelirteç olarak değerlendirilmiştir (109).

Multipl skleroz için tek bir tanı testi yoktur. Tanı klinik belirtiler ve MR bulgularının bir araya getirilmesiyle konulmaktadır. Bu yönüde alternatif bir yol olmadığından hareket ederek, uzun dönem değerlendirme için biyobelirteç arayışına giren araştırmacılar, toplaması kolay, maliyeti düşük idrar örneklerinde çalışmışlardır. Bu amaçla Dapson ve ark. 39 hastada BOS ve idrar örnekleri toplamışlardır. BOS oligoklonal bant (OCB), kappa, lambda hafif zincir (FLC), ubiquitin ve neopterin ölçümleri yapmışlardır. Sonuçta 16 hastada OCB (+) çıkarken, OCB ile BOS FLC arasındaki ilişki doğrulanmıştır. BOS neopterin düzeyi ile özellikle BOS lambda olmak üzere FLC arasında ilişki gösterilmiştir. Benzer şekilde üriner neopterin/kreatin oranı ile üriner FLC/protein arasında da güçlü bir ilişki bulunmuştur. BOS OCB ve FLC, MS'de intratekal B ve plazma hücre aktivasyonunu göstermesi açısından önemlidir. BOS neopterin düzeyi ile olan ilişki hücrel immüniteyi göstermesi açısından anlamlıdır. Bu sonuç MS'in çok yönlü immün aktivasyonunu göstermektedir (110).

Multipl skleroz immünopatolojisi alanındaki metabolomiks çalışmalarında, değişikliklerden sorumlu olabilecek 44 metabolit ve 6 yolak tespit edilmiş olup bu yollardan birisi de triptofan yolağıdır. Mikrobiota kaynaklı triptofan yıkım ürünlerinin deneysel alerjik ensefalit (EAE) modellerinde plazmada arttığı gösterilmiştir (111). Triptofan düzeyi MS'de düşerkenIDO aracılığıyla kinürenin ve metabolitlerine dönüşüm, KY ile artmaktadır.IDO, IFN γ aracılığıyla mikrogliya, monosit ve makrofajlarda ifade edilmektedir (112). EAE modellerinde aktive olmuş monosit düzeyinin önce periferik kanda yükseldiği daha sonra kan beyin bariyerinin bozulması ile beyin parankimine göç ettiği gösterilmiştir. Bu göç EAE semptom şiddeti ile ilişkili bulunmuştur (113-5). MS hastalığındaki demiyelinizan plaklarda aktive olmuş monosit ve monositten dönüşen makrofajlar (MDMs) mevcuttur. Bu aktive olmuş hücrelerdeki artmış KY enzim aktivitesi inflamasyona yanıtı düzenlemede rol alabilir (109). KY aktivasyonunun artması nörotoksik metabolit

olan QUIN düzeyini de artırmaktadır. MS fare modellerinde serum QUIN ve Kyn/Trp düzeyi artışı gösterilmiş, hastalık şiddeti ile de ilişkili bulunmuştur (110). RRMS hastalarında ise relaps döneminde, remisyon dönemine göre daha yüksek QUIN düzeyi olduğu gösterilmiştir (111). Buna karşılık nöroprotektif metabolit olan KYNA, MS hastalarının BOS örneklerinde kontrollerden düşük bulunmuştur (112-4). MS patogeneğinde, KY nörotoksik metabolitleri QUIN ve 3-HK katkıda bulunabilir.

Kinolinik asit (QUIN), nöral hücreler üzerinde toksik değildir. İnflamatuar çevrede seviyesi yükseldiğinde (300nM, kronik süreçlerde 100nM bile yeterlidir) toksik olmaya başlar (122). QUIN nörotoksitesi, MS'deki inflamasyonla ilişkili çok sayıda nörodejeneratif süreçte yer alır. QUIN nörotoksik etkisi NMDA reseptörleri üzerinde agonist etki ile hücre içine kalsiyum girişini artırması yanında serbest radikal üretimini artırarak özellikle oligodentosit ve nöronlar üzerinden nörodejenerasyona katkıda bulunur (123). Hücre içine kalsiyum girişinin artması, nitrik oksit üretiminin artması ile mitokondriyal hasar ve programlanmış hücre ölümü olur (124).

Kinürenin metabolizması birçok çalışmada MS hayvan modellerinde, EAE ile farelerde ve MS hastalarında idrar, serum ve BOS düzeyleri çalışılmıştır (111, 125-27). Yeni tarihli bir çalışmada 47 RRMS hastası, 43 kontrol ile idrar örnekleri üzerinden karşılaştırıldığında; kontrollere göre hasta grubunda idrar Kyn ve Kyn/Trp oranı düşük çıkmıştır. Trp metabolitleri ile yaş ve hastalık süreci arasında ilişki bulunmazken, EDSS ile idrar Trp, Kyn/Trp oranı arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur (128). Bu çalışmayı yapan araştırmacılar sonuçları birleştirdiğinde MS'in erken döneminde Kyn'e dönüşümün azaldığı şeklinde yorumlamıştır. Kyn'in AhR üzerinden immünregulatör etkisi (129), CD4⁺ T hücrelerin T_{reg} hücrelere dönüştüğü (130) hipotezinden yola çıkarak idrar Kyn ve Kyn/Trp oranının düşmesinin hastalığın erken döneminde, T_{reg} disfonksiyonu ile katkıda bulunduğunu ifade etmişlerdir. Bu sonuçlar Lim ve ark. MS hastalarının serum örneklerinde buldukları yüksek Kyn/Trp oranı ile farklıdır (131). Bu farklılık değişik biyolojik örneklerde çalışılmasına, metabolizmanın farklı fazlarını yansıtmaya ya da vücudun farklı kısımlarında enzimlerin aktivitelerinin farklı olmasına yorulmuştur. Bu durum

Trp metabolizmasının kan, idrar ve BOS örneklerinde farklı sonuçlar veren çalışmalar olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda inflamasyonun pteridin ve Trp metabolizması üzerine etkisini hem idrar hem serum örneklerinde çalışmak amaçlanmıştır. Bu amaç için inflamasyonun ön planda olduğu MS ve nörodejenerasyonun ön planda olduğu PH,iki hasta grubuyla, kontrol grubunu karşılaştırmak istenmiştir. Böylece pteridin, Trp ve KY metabolitlerinin inflamasyon göstergesi olarak değeri, nörodejenerasyona katkısı, hastalık derecesi ile ilişkisi değerlendirilebilecektir. İnflamasyonun tetiklediği nörodejenerasyonun patogenezinin etkileri aydınlatılmaya çalışılmıştır.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Gruplarının Tanımlanması

Bu tez çalışmasında örneklerin toplanması işlemi Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda, örneklerle ilgili ölçümler Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 21 Haziran 2022 tarih, 16969557-1223 sayılı, karar no:2022/11-39 onayı ile gerçekleştirilmiş ve çalışma süresince Helsinki Bildirgesi ilkeleri takip edilmiştir. Etik kurul onayı ile aydınlatılmış onam formuna göre kan ve idrar örnekleri toplanmıştır.

Örnekler Ekim 2022- Mart 2023 tarihleri arasında toplanmıştır. 18 yaş altı çocuk grubuna girdiğinden çalışmaya alınmamıştır. Dejenertif hastalıklar geç yaşlarda da başlayabildiği için üst yaş sınırı konulmamıştır. Örnekler MS, PH ve kontrol grubu olarak üç gruba ayrılarak seçilmiştir. Patogenezinde inflamasyon ya da nörodejenerasyonun ön planda olmasına göre MS ve PH grupları kendi içinde üç alt gruba ayrılmıştır. MS grubu RRMS, SPMS, PPMS, PH ise parkin mutasyonu olanlar, GBA mutasyonu olanlar ve idiopatik PH (IPH) alt gruplarına ayrılmıştır. Her alt grupta aynı sayıda birey olmasına ve olabilecek maksimum kişiye ulaşılmaya çalışılmıştır. Her grupta 30 kişi olması hedeflenmiştir. Bu şekilde etki büyüklüğü 0.35, %80 güç, %5 tip 1 hata miktarı ile katılım sağlanmıştır.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- MS hastalığı tanısı almış olmak
- RRMS alt grubu;
 - Ataklar halinde seyreden,
 - Ataklardan sonra tam ya da tama yakın düzelen.
- SPMS alt grubu;
 - İlk ataklardan sonra iyileşmenin azaldığı ya da olmadığı hastalar,
 - Beyin görüntülemelerinde kontrastlanmanın azaldığı ya da olmadığı hastalar,
 - Beyin görüntülemelerinde, beyin volümünde azalma görülen, nörodejenerasyonun ön plana çıktığı hastalar,
 - Son altı ay içinde atak geçirmeden progresyon gösteren hasta olmak.

- PPMS alt grubuna;
 - 1 yıl, ataktan bağımsız progresyon gösteren hastalar,
 - Aşağıdakilerden 2'si olan hastalar
 - i. MS tipik (periventriküler, kortikal/jukstakortikal veya infratentoryal) alanlarda ≥ 1 lezyon,
 - ii. Spinal kordda ≥ 2 lezyon,
 - iii. BOS spesifik OKB varlığı.
- PH nedeniyle takip edilen hastalar genetik test sonuçlarına göre
 - PRKN mutasyonu olanlar
 - GBA mutasyonu olanlar
 - İdiopatik PH olmak.
- Katılımcı onam formu daldurmak.

Gönüllüleri dışlama kriterleri:

- Alzheimer hastalığı ve diğer demans bulguları olan hastalar
- Otoimmün hastalığı olanlar. SLE, DM, Sjogren, Behçet v.b
- Enfeksiyon tanısı ve tedavisi alanlar
- Psikiyatrik bozukluğu bulunanlar
- Malignite tanı ve tedavisi altındakiler
- Beyin görüntülemesinde tümör, vasküler olay, kompresif lezyon olanlar
- Malabsorbsiyon sendromları, B12 eksikliği olanlar
- HTLV-1, HIV miyelopatisi olanlar
- Lyme hastalığı, sarkoidoz tanısı olanlar
- Genetik kökenli lökodistrofisi olanlar
- Parkinson plus sendromu olanlar

Gönüllülerin çalışmadan çıkarılma kriteri sorumlu hekim kararına bırakılmıştır. Bu çalışma, gözleme dayalı karşılaştırmalı bir çalışmadır.

3.2. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı MS ve hareket bozuklukları polikliniğine başvuran, MS ve PH teşhisi olan, katılımcı olmayı kabul edip onam formunu imzalayan gönüllülerden alınan kan ve idrar örnekleri ışıktan

korunarak, soğuk zincir ile korunarak Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakolojik Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'na getirildi. Kan örnekleri 4000 devir/dakika'da 10 dakika santrifüj edilerek serum ayrıldı. Serum örnekleri küçük porsiyonlara ayrılarak eppendorf tüpler içerisinde, analiz gününe kadar derin dondurucuda -20°C'de saklandı. Örneklerin toplanması, transferi, saklanması ve ölçüm aşamalarında gün ışığından korunmasına özen gösterildi.

3.3. Yöntemler

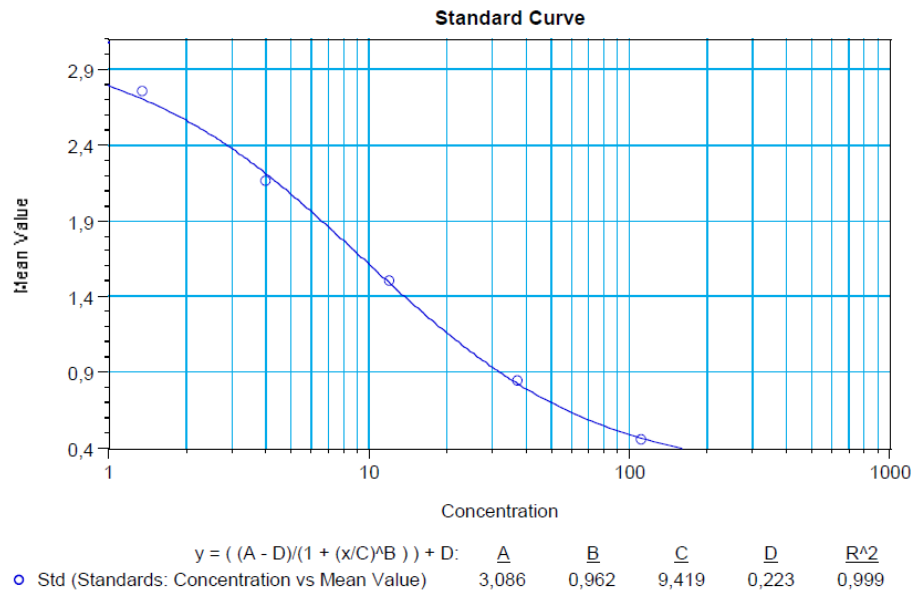
Serum neopterin, QUIN, KYNA düzeyleri ticari ELISA kitleri kullanılarak belirlendi. İdrar neopterin, biyopterin ve kreatinin konsantrasyonları ise eş zamanlı olarak floresans ve ultraviyole (UV) dedektörleri kullanılarak yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YBSK, HPLC) ile ölçüldü. Serum Trp ve Kyn düzeyleri de eş zamanlı floresans ve UV dedektörleri kullanılarak YBSK ile belirlendi.

3.3.1. Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesi

Analiz günü, dondurucudan çıkarılan ve oda sıcaklığına getirilen serum örnekleri vorteksledi ve homojen olarak karışmaları sağlandı. Serum örnekleri, standart ve kontrol çözeltilerinin her birinden 20 µl alınarak ELISA plağı kuyucuklarına ilave edildi. 100 µl enzim konjugatı çözeltisi ve 50 µl neopterin antiserum plak kuyucuklarına ilave edildi. Plağın üzeri kapatıldı ve ışıktan korunarak oda ısısında yatay çalkalayıcıda 500 devir/dk'da 90 dakika inkübasyona bırakıldı. 90 dakika sonunda kuyucuklardaki çözeltiler uzaklaştırıldı ve hazırlanan yıkama çözeltisinden her seferinde 300 µl kullanılarak 5 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 150 µl TMB substrat çözeltisi eklendi ve plak oda sıcaklığında, ışıktan korunarak, yatay çalkalayıcıda 500 devir/dk hızda 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra her bir kuyucuğa 150 µl durdurma çözeltisi eklendi. Durdurma çözeltisi ilavesinden itibaren 10 dakika içinde ELISA plak okuyucuda 450 nm dalga boyunda optik dansiteler ölçüldü.

3.3.2. Neopterin Düzeylerinin Hesaplanması

Sonuçlar değerlendirilirken neopterin düzeylerine karşılık gelen optik dansite değerleri Soft Max Pro4.8 programına girildi. 4-parametre yöntemi kullanılarak kalibrasyon doğrusu hazırlandı ve örneklerdeki neopterin konsantrasyonları hesaplandı ve nmol/L olarak ifade edildi. Kalibrasyon örneği Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Neopterin kalibrasyon eğri örneği.

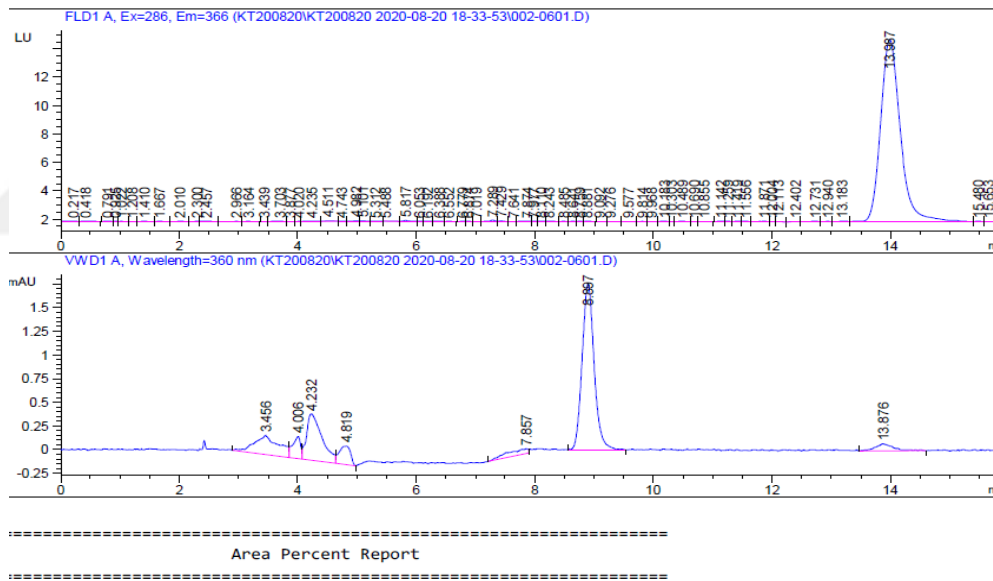
3.3.3. Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Belirlenmesi

Triptofan ve kinürenin düzeylerinin belirlenmesinde Widner ve ark.nın yöntemi küçük değişiklikler yapılarak kullanılmıştır (126). Her bir serum örneğinden 200 µl alınarak 200 µl 0,015 M KH₂PO₄ tamponu, pH: 6,4 ilave edildi. 50 µl perklorik asit çözeltisi (%70, h/h) ile protein çöktürme işlemi yapıldı. Tüpler vortekslenmeyi takiben 10 dakika süreyle 13.000 devir/dk'da santrifüjlendi. 400 µl süpernatant alınarak viallere aktarıldı. 25 µl hacimde HPLC enjeksiyonu yapıldı. Hareketli faz olarak 0,8 ml/dk akış hızında 0,015 M pH: 6,4 KH₂PO₄ tamponu kullanıldı. Triptofan düzeyleri floresan dedektör (eksitasyon dalga boyu 285 nm, emisyon dalga boyu 365 nm) ile, kinürenin düzeyleri ise eş zamanlı olarak ultraviyole dedektör (dalga boyu 360 nm) ile tespit edildi. Triptofan ve kinürenin düzeyleri hazırlanan kalibrasyon doğru denklemi kullanılarak µmol/L olarak hesaplandı. İndolamin 2,3-dioksijenaz aktivitesini ifade etmek için, her bir örnekteki

kinürenin konsantrasyonu, örnekteki triptofan konsantrasyonuna oranlanarak (Kyn/Trp) $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ şeklinde ifade edildi.

3.3.4. Triptofan ve Kinürenin Standart Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması

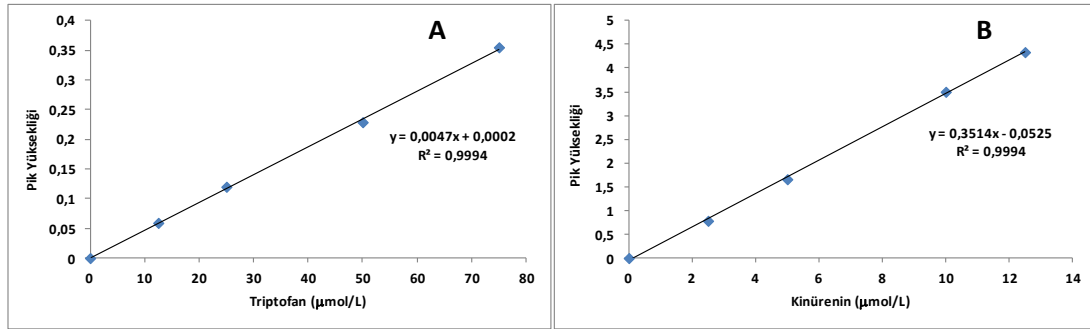
4 farklı konsantrasyonda hazırlanan triptofan ve kinürenin stok çözeltileri, her birinden 25'er μl olacak şekilde otomatik örnekleyici ile sisteme yüklendi. Standart konsantrasyonlara karşılık gelen pik yüksekleri kullanılarak kalibrasyon doğruları hazırlandı. Örneklerdeki triptofan ve kinürenin konsantrasyonlarının belirlenmesinde, standartlarla hazırlanan kalibrasyon doğru denklemleri kullanıldı. Triptofan ve kinürenin standart çözeltilerine ve rastgele seçilen bir serum örneğine ait pik örnekleri Şekil 3.2.'de verilmiştir.



Şekil. 3.2. Triptofan (12,5 μM) ve kinürenin (2,5 μM) standartına (A) ve serum örneğine (B) ait kromatogramlar.

Hareketli faz: %7 (h/h) asetonitril içeren 0,015 M KH_2PO_4 , pH: 6,4 Tamponu. Akış hızı: 0,8 ml/dk. A) Floresan dedektör: Triptofan (λ_{eks} : 285 nm, λ_{em} : 365 nm) B) UV dedektör: Kinürenin, λ : 360 nm.

Çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan standart triptofan ve kinürenin çözeltileri ile kalibrasyon doğrusu hazırlanmıştır (Şekil 3.3). Validasyon çalışmaları ile tüm serum örneklerindeki triptofan ve kinürenin düzeyleri, ilgili kalibrasyon doğrusuna ait denklem kullanılarak hesaplanmıştır.



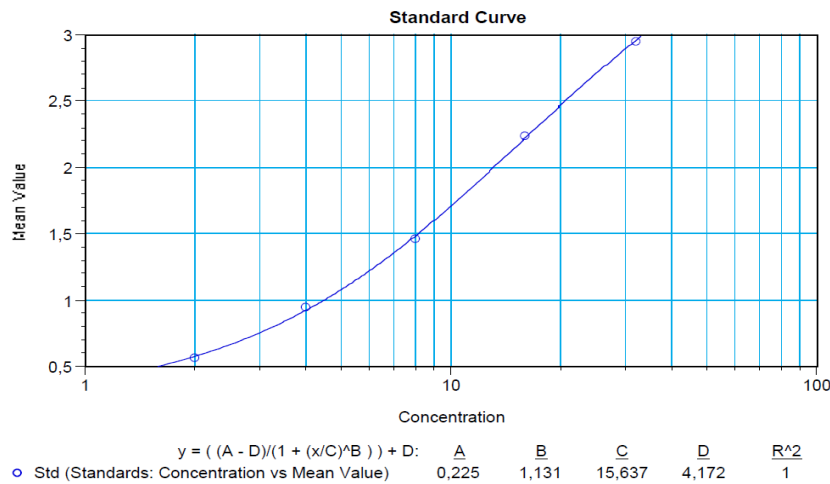
Şekil 3.3. Triptofan (A) ve kinürenin (B) standartlarına ait kalibrasyon doğruları.

3.3.5. Kinolinik Asit Düzeylerinin Belirlenmesi

Analiz günü, dondurucudan çıkarılan ve oda sıcaklığına getirilen serum örnekleri vortekslenildi ve homojen olarak karışmaları sağlandı. Plağın kuyucuklarına serum örneklerinden 40 µl, standartlardan 50 µl ilave edildi. Kör olarak kullanılacak kuyucuğa hiçbir çözelti ilave edilmedi. Serum örneklerinin üzerine 10 µl biyotin işaretli kinolinik asit antikor çözeltisi ilave edildi. Kör kuyucukları hariç olacak şekilde standart ve örnek kuyucuklarına 50 µl streptavidin HRP çözeltisi ilave edilerek plağın üzeri kapatıldı ve 37°C’de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. 60 dakika inkübasyon sonunda kuyucuklardaki çözeltiler uzaklaştırıldı ve hazırlanan yıkama çözeltisinden her seferinde 300 µl kullanılarak plak 5 kere yıkandı. Her bir kuyucuğa 50 µl kromojen A çözeltisi ve 50 µl kromojen B çözeltisi eklendi ve plak hafifçe çalkalandıktan sonra 37°C’de 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda her bir kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Durdurma çözeltisi ilavesinden itibaren 10 dakika içinde ELISA plak okuyucuda 450 nm dalga boyunda optik dansiteler ölçüldü.

3.3.6. Kinolonik Asit Düzeylerinin Hesaplanması

Sonuçlar değerlendirilirken kinolonik asit düzeylerine karşılık gelen optik dansite değerleri Soft Max Pro4.8 programına girildi. 4-parametre yöntemi kullanılarak kalibrasyon doğrusu hazırlandı ve örneklerdeki neopterin konsantrasyonları hesaplandı ve ng/ml olarak ifade edildi. QUIN kalibrasyon eğri örneği Şekil 3.4.’de gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Kinolonik asit kalibrasyon eğri örneği.

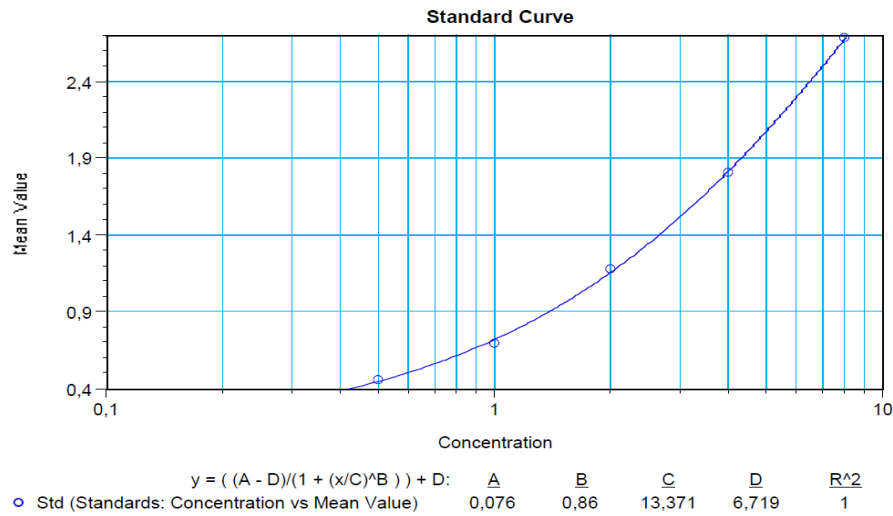
3.3.7. Kinürenik Asit Düzeylerinin Belirlenmesi

Analiz günü, dondurucudan çıkarılan ve oda sıcaklığına getirilen serum örnekleri vortekslendi ve homojen olarak karışmaları sağlandı. Plağın kuyucuklarına serum örneklerinden 40 µl, standartlardan 50 µl ilave edildi. Kör olarak kullanılacak kuyucuğa hiçbir çözelti ilave edilmedi. Serum örneklerinin üzerine 10 µl biyotin işaretli kinürenik asit antikor çözeltisi ilave edildi. Kör kuyucukları hariç olacak şekilde standart ve örnek kuyucuklarına 50 µl streptovidin HRP çözeltisi ilave edilerek plağın üzeri kapatıldı ve 37°C’de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. 60 dakika inkübasyon sonunda kuyucuklardaki çözeltiler uzaklaştırıldı ve hazırlanan yıkama çözeltilisinden her seferinde 300 µl kullanılarak plak 5 kere yıkandı. Her bir kuyucuğa 50 µl kromojen A çözeltisi ve 50 µl kromojen B çözeltisi eklendi ve plak hafifçe çalkalandıktan sonra 37°C’de 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda her bir kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Durdurma çözeltisi ilavesinden itibaren 10 dakika içinde ELISA plak okuyucuda 450 nm dalga boyunda optik dansiteler ölçüldü.

3.3.8. Kinürenik Asit Düzeylerinin Hesaplanması

Sonuçlar değerlendirilirken kinürenik asit düzeylerine karşılık gelen optik dansite değerleri Soft Max Pro4.8 programına girildi. 4-parametre yöntemi

kullanılarak kalibrasyon doğrusu hazırlandı ve örneklerdeki neopterin konsantrasyonları hesaplandı ve nmol/ml olarak ifade edildi.



Şekil 3.5. Kinürenik asit kalibrasyon eğri örneği.

3.3.9. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler “Statistical Package for the Social Sciences”(SPSS27) istatistik yazılımı kullanılarak değerlendirildi. Neopterin, triptofan, kinürenin, kinürenik asit, kinolonik asit düzeyleri ve Kyn/Trp oranları aritmetik ortalama ve standart sapma ile gösterildi. Tanımlayıcı istatistikler ve bağımlı değişkenler arasındaki ilişki korelasyon analizi ve lojistik regresyon analizi ile değerlendirildi. Alfa değeri 0,05 olarak seçilerek, $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı önemli kabul edildi. Bulguların yorumlanmasında frekans tabloları ve tanımlayıcı istatistikler kullanılmıştır.

Normal dağılıma uygun ölçüm değerleri için parametrik yöntemler kullanılmıştır. Parametrik yöntemlere uygun şekilde, üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “ANOVA” test (F-tablo değeri) yöntemi kullanılmıştır.

Normal dağılıma uygun olmayan ölçüm değerleri için parametrik olmayan yöntemler kullanılmıştır. Parametrik olmayan yöntemlere uygun şekilde, iki bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “Mann-Whitney U” test (Z-

tablo değeri); üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis H" test (χ^2 -tablo değeri) yöntemi kullanılmıştır.

İki nitel değişkenin birbiriyle ilişkilerinin incelenmesinde "Pearson- χ^2 " çapraz tabloları kullanılmıştır. MS ve Parkinson risk durumunu etkileyen faktörlerin belirlenmesinde "Binary Lojistik Regresyon: Backward LR" analizi yapılmıştır.



4. BULGULAR

Demografik dağılıma bakıldığında gruplara göre cinsiyet açısından anlamlı fark yok iken yaş (yıl) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($\chi^2=9,686$; $p=0,008$). Anlamlı farkın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan Bonferroni düzeltilmeli ikili karşılaştırmalar sonucunda; MS grubundakiler ile Parkinson grubundakiler arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Parkinson grubundakilerin yaşları (yıl), MS grubundakilere göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Gruplara göre BKİ (kg/m^2) değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($F=5,066$; $p=0,008$). Anlamlı farkın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için varyansların homojenliği dikkate alınarak yapılan Tukey ikili karşılaştırmalar sonucunda; MS grubundakiler ile Parkinson grubundakiler arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Parkinson grubundakilerin BKİ (kg/m^2) değerleri, MS grubundakilere göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Gruplara göre bazı nicel parametreler Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Gruplara göre bazı nicel parametrelerinin karşılaştırılması.

Grup Değişken	MS (n=37) ⁽¹⁾		Parkinson (n=29) ⁽²⁾		Kontrol (n=20) ⁽³⁾		İstatistiksel analiz* Olasılık
	$\bar{X} \pm S. S.$	Medyan [IQR]	$\bar{X} \pm S. S.$	Medyan [IQR]	$\bar{X} \pm S. S.$	Medyan [IQR]	
Yaş (yıl)	44,00±14,14	46,0 [25,5]	55,65±12,19	53,0 [17,0]	48,50±8,49	47,5 [10,5]	$\chi^2=9,686$ p=0,008 [1-2]
Hastalık süresi (yıl)	10,02±8,27	9,0 [13,5]	9,69146,91	7,0 [10,5]	-	-	Z=-0,175 p=0,861
BKİ (kg/m^2)	25,18±3,89	24,8 [5,2]	28,27±3,45	27,9 [5,1]	27,11±4,80	25,9 [6,5]	F=5,066 p=0,008 [1-2]
Sigara (adet/gün)	12,56±8,51	12,5 [15,5]	15,82±13,78	10,0 [17,0]	13,00±7,75	15,0 [17,0]	$\chi^2=0,166$ p=0,921
Sigara (yıl)	19,06±13,07	20,0 [22,3]	20,09±8,81	20,0 [6,0]	20,29±11,64	20,0 [8,0]	$\chi^2=0,135$ p=0,935

*Normal dağılıma sahip olan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “ANOVA” test (F-tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır. Normal dağılıma sahip olmayan verilerde iki bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “Mann-Whitney U” test (Z-tablo değeri); üç veya daha fazla bağımsız grubun karşılaştırılmasında “Kruskal-Wallis H” test (χ^2 -tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır.

Grupların eğitim düzeyi, ameliyat öyküsü, kronik hastalık, primer hastalık dışındaki kullandıkları ek ilaçlar gibi genel özellikler arasındaki ilişkilerin incelenmesi Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Gruplar ile genel özellikler arasındaki ilişkilerin incelenmesi.

Değişken	MS grubu (n=37)		Parkinson grubu (n=29)		Kontrol grubu (n=20)		İstatistiksel analiz* Olasılık
	N	%	n	%	N	%	
Eğitim düzeyi							
İlkokul veya altı	5	13,5	12	41,4	2	10,0	$\chi^2=14,426$ p=0,025
Ortaokul	3	8,1	3	10,3	-	-	
Lise	7	18,9	2	6,9	2	10,0	
Lisans veya üzeri	22	59,5	12	41,4	16	80,0	
Sigara kullanma							
Evet	18	48,6	11	37,9	7	35,0	$\chi^2=1,271$ p=0,530
Hayır	19	51,4	18	62,1	13	65,0	
Ameliyat öyküsü							
Yok	16	43,2	13	44,8	10	50,0	$\chi^2=0,244$ p=0,885
Var	21	56,8	16	55,2	10	50,0	
Kronik hastalık							
Yok	21	56,8	14	48,3	12	60,0	$\chi^2=0,773$ p=0,680
Var	16	43,2	15	51,7	8	40,0	
İlaç kullanma							
Yok	19	51,4	19	65,5	13	65,0	$\chi^2=1,702$ p=0,427
Var	18	48,6	10	34,5	7	35,0	

*İki nitel değişkenin birbiriyle ilişkilerinin incelenmesinde "Pearson- χ^2 " çapraz tabloları kullanılmıştır.

Gruplar ile eğitim düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir ($\chi^2=14,426$; p=0,025). MS grubundaki 22 kişinin (%59,5) ve kontrol grubundaki 16 kişinin (%80,0) lisans/üzeri eğitim düzeyinde olduğu, Parkinson grubunda olan 12 kişinin (%41,4) ise ilkokul/altı eğitim düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Eğitim düzeyi ilkokul/altı olanların ağırlıklı olarak Parkinson grubunda olduğu, lise ve lisans/üzeri grubunda olanların ise ağırlıklı olarak MS grubunda olduğu belirlenmiştir.

Gruplar ile sigara kullanma, ameliyat öyküsü, kronik hastalık durumu ve ilaç kullanım durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktur (p>0,05). Hastalıklara göre kullanılan ilaçların dağılımı Tablo 4.3.'de gösterilmiştir. PH grubunda madopar, amantadin, rasajilin en çok tercih edilen ilaçlar olurken MS grubunda tedavi için en çok orelizumab ve fingolimod kullanıldığı görülmüştür. Bu iki tedavi de güçlü immüsupresyon yaptıkları için çalışmamız açısından önemlidir.

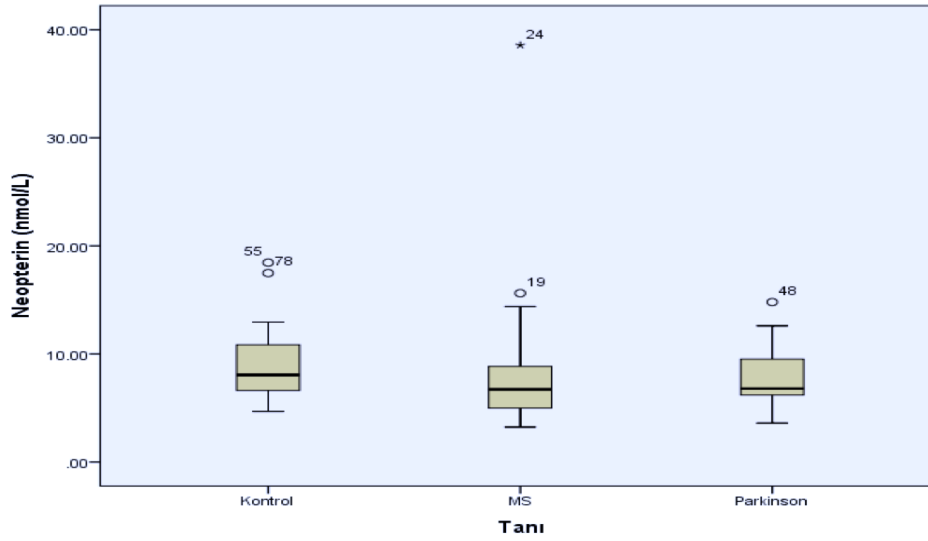
Tablo 4.3. Hastalıklara göre kullanılan ilaçların dağılımı.

İlaçlar	N	%
<u>Parkinson grubu</u>		
Madopar	17	58,6
Amantadin	20	69,0
Rasajilin	13	44,8
SSRI	6	20,7
Rivastigmin	3	10,3
Ropinirole	7	24,1
Madopar HBS	6	20,7
Clozapine	1	3,4
Levodopa, karbidopa, entakopone	10	34,5
Ketiapin	6	20,7
Dideral	2	6,9
Pramipeksol	10	34,5
Klonozepam	3	10,3
Baklofen	1	3,4
Klozapin	1	3,4
Domperidon	3	10,3
Pribedil	1	3,4
Karbidopa/levodopa SR	1	3,4
<u>MS grubu</u>		
Okrelizumab	21	56,8
Baklofen	2	5,4
Tizanidin	1	2,7
Fampiridin	1	2,7
Fingolimod	4	10,8
Azatioprin	1	2,7
Amitriptilin	1	2,7
İnteferon	2	5,4
Teriflunamid	2	5,4
Dimetil fumaram	1	2,7

*İki nitel değişkenin birbiriyle ilişkilerinin incelenmesinde “Pearson- χ^2 ” çapraz tabloları kullanılmıştır.

4. 1. Neopterin Düzeyleri

Neopterin düzeyleri ELISA kit kullanma kılavuzu ile hazır standart çözeltiler ile yapılan ölçümlerde elde edilen verilerin kalibrasyon doğrusu kullanılarak hesaplanmıştır. Gruplara göre neopterin düzeyinin dağılımı Şekil 4.1.’de, ortalama değerleri Tablo 4.4.’te gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Gruplara göre serum neopterin düzeyleri.

Tablo 4.4. Serum neopterin düzeylerini gruplara göre ortalama değerleri.

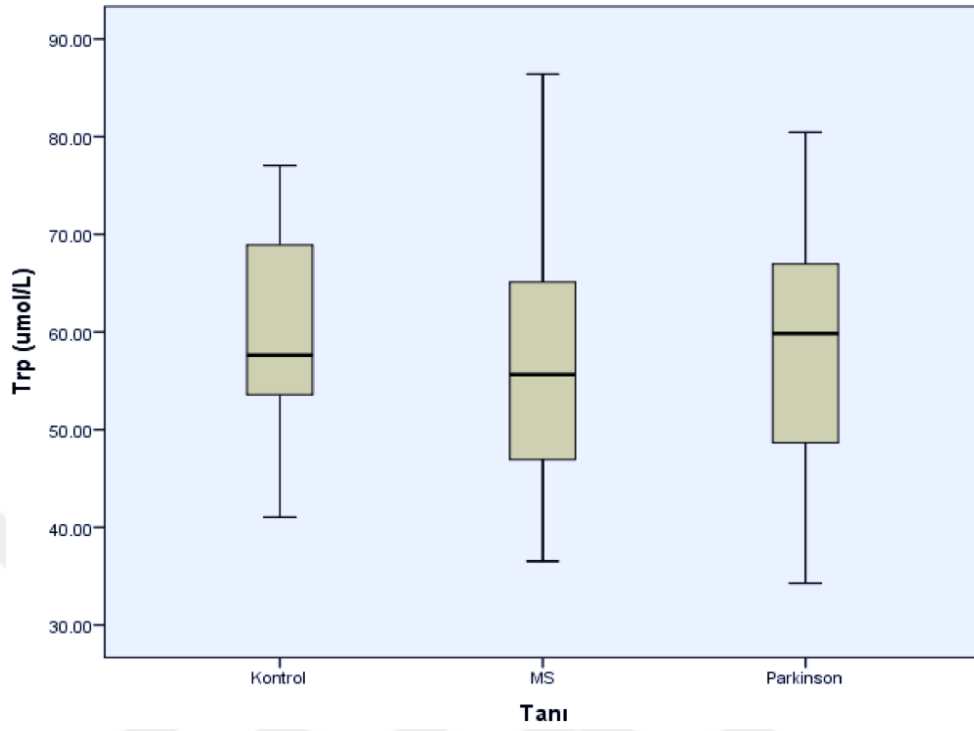
	Kontrol (n=20)		MS (n=37)		Parkinson (n=29)	
	Mean±SD	Median (Min-Max)	Mean±SD	Median (Min-Max)	Mean±SD	Median (Min-Max)
Neopterin (nmol/L)	9.25±3.78	8.06 (4.68-18.45)	8.18±5.95	6.72 (3.23-38.57)	7.92±2.6	6.8 (3.6-14.8)

4. 2. Triptofan ve Kinürenin Düzeyleri

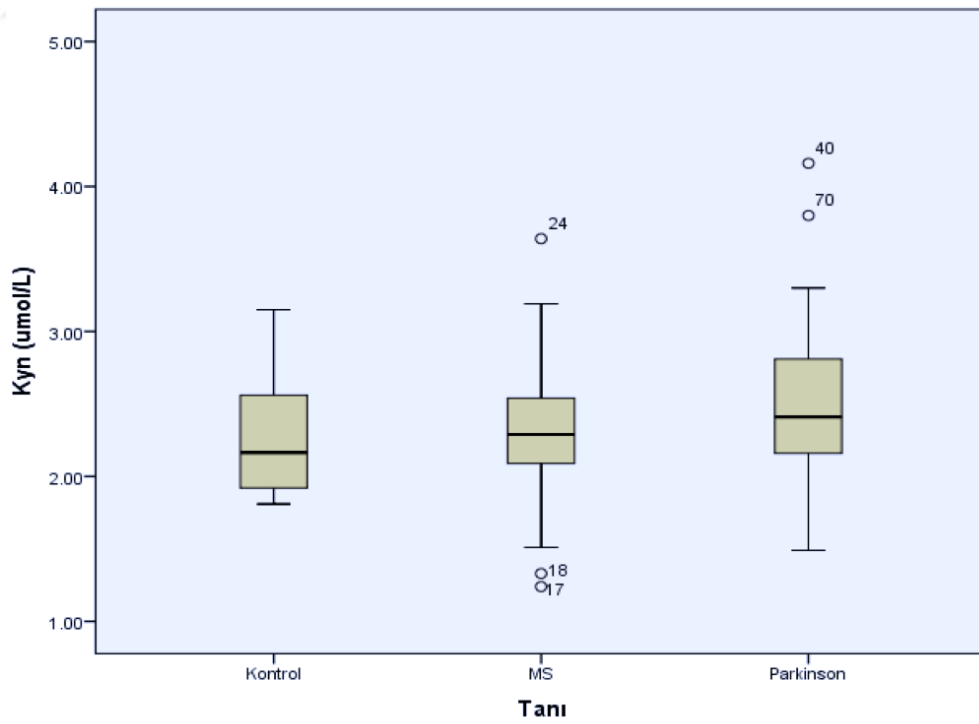
Serum Kyn, Trp ve Kyn/Trp oranlarının gruplara göre ortalama düzeyleri Tablo 4.5.'te, gruplara göre dağılımı ise sırayla Şekil 4.2., 4.3. ve 4.4.'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Gruplara göre Kyn, Trp, Kyn/Trp ortalama değerleri.

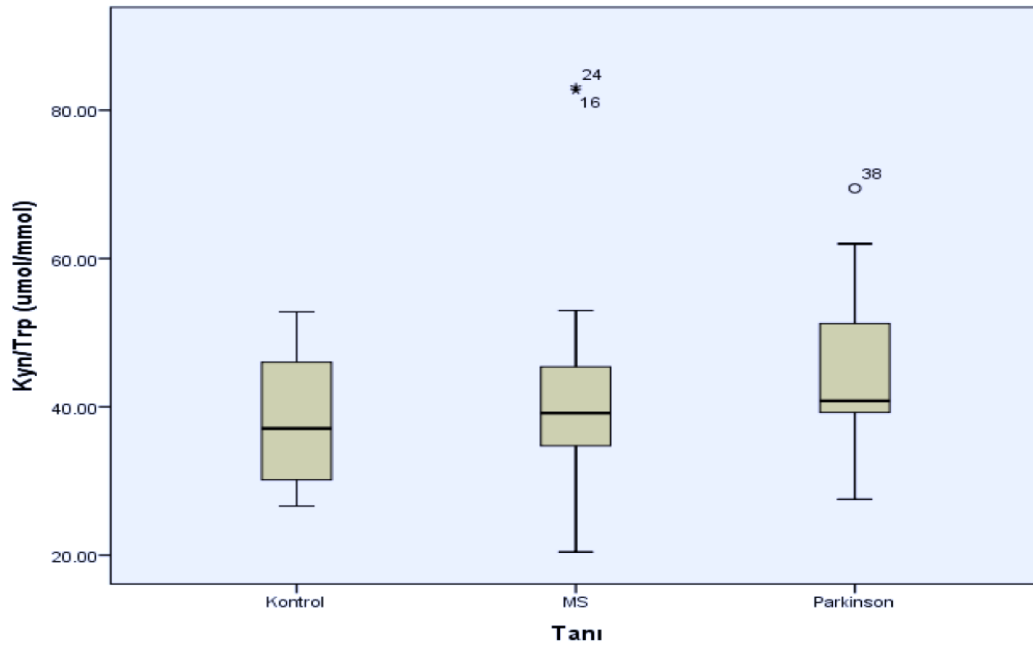
	Kontrol (n=20)		MS (n=37)		Parkinson (n=29)	
	Mean±SD	Median (Min-Max)	Mean±SD	Median (Min-Max)	Mean±SD	Median (Min-Max)
Trp (µmol/L)	60.16±9.27	57.62 (41.04-77.04)	56.16±11.74	55.65 (36.52-86.4)	58.73±12.59	59.85 (34.28-80.45)
Kyn (µmol/L)	2.26±0.39	2.17 (1.81-3.15)	2.27±0.5	2.29 (1.24-3.64)	2.54±0.59	2.41 (1.49-4.16)
Kyn/Trp (µmol/L)	38.45±8.63	37.08 (26.62-52.82)	41.57±12.12	39.16 (20.42-83.1)	44.45±10.51	40.81 (27.53-69.47)



Şekil 4.2. Serum triptofan düzeylerinin gruplara göre dağılımı.



Şekil 4.3. Serum kinürenin düzeylerinin gruplara göre dağılımı



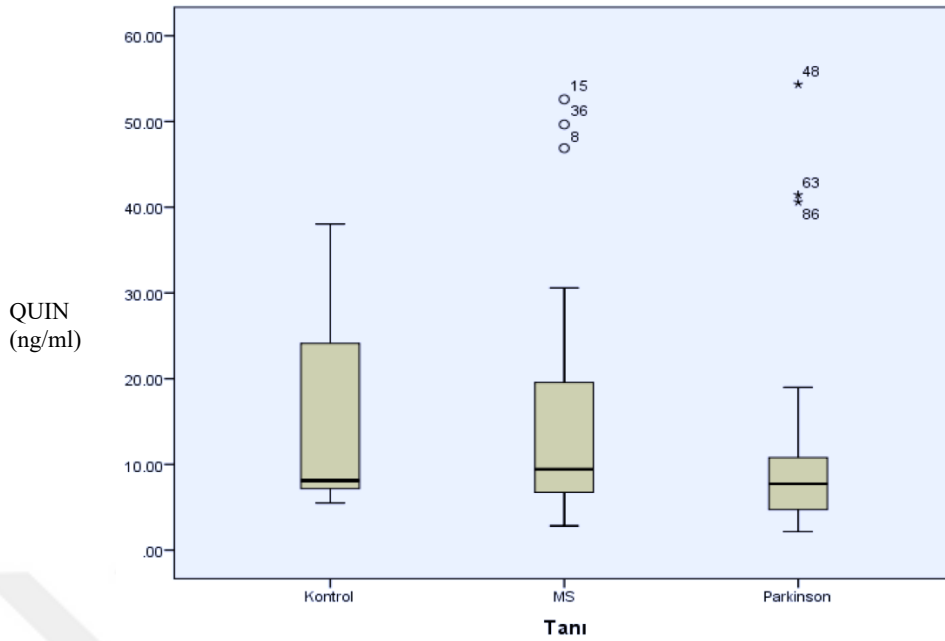
Şekil 4.4. Serum Kyn/Trp oranlarının gruplara göre dağılımı.

4.3. Kinolonik Asit Düzeyleri

Kinolonik asit düzeyleri ELISA kiti içinde bulunan stoktan hazırlanan standart çözeltiler ile yapılan ölçümlerde elde edilen verilerin kalibrasyon doğrusu kullanılarak hesaplanmıştır. Gruplara göre QUIN dağılımı Şekil 4.5.'te, bulunan ortalama değerler ise Tablo 4.6.'da gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Gruplara göre serum kinolonik asit düzeyleri.

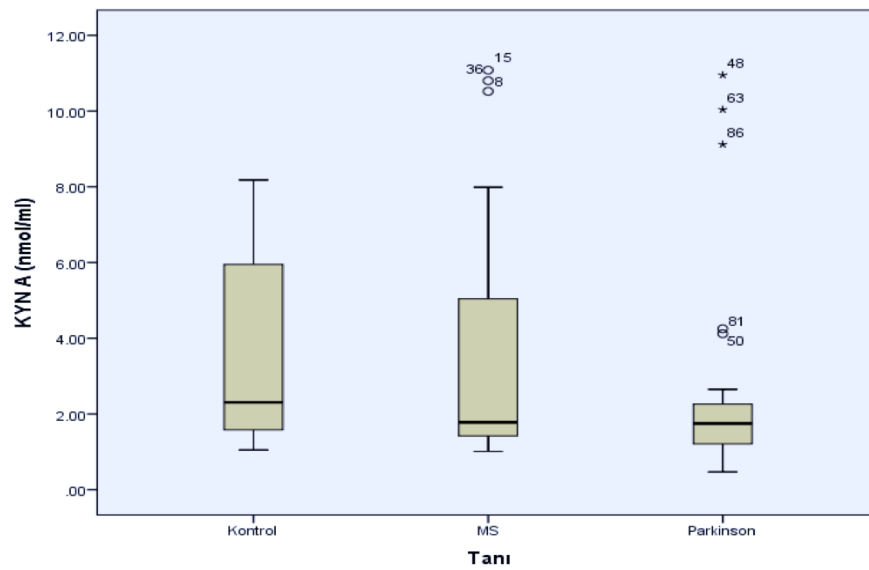
	Kontrol (n=20)		MS (n=37)		Parkinson (n=29)	
	Mean±SD	Median (Min-Max)	Mean±SD	Median (Min-Max)	Mean±SD	Median (Min-Max)
QUIN (ng/ml)	14.99±10.45	8.11 (5.5-38.03)	14.77±12.8	9.43 (2.82-52.58)	11.61±12.48	7.73 (2.16-54.32)



Şekil 4.5. Serum kinolik asit düzeylerinin gruplara göre dağılımı.

4.4. Kinürenik Asit Düzeyleri

Kinürenik asit düzeyleri ELISA kiti içinde bulunan stoktan hazırlanan standart çözeltiler ile yapılan ölçümlerde elde edilen verilerin kalibrasyon doğrusu kullanılarak hesaplanmıştır. Serum KYNA düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4.6.'da, gruplara göre ortalamaları ise Tablo 4.7.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Serum kinürenik asit düzeylerinin gruplara göre dağılımı.

Tablo 4.7. Serum kinürenik asit ortalamalarının gruplara göre dağılımı.

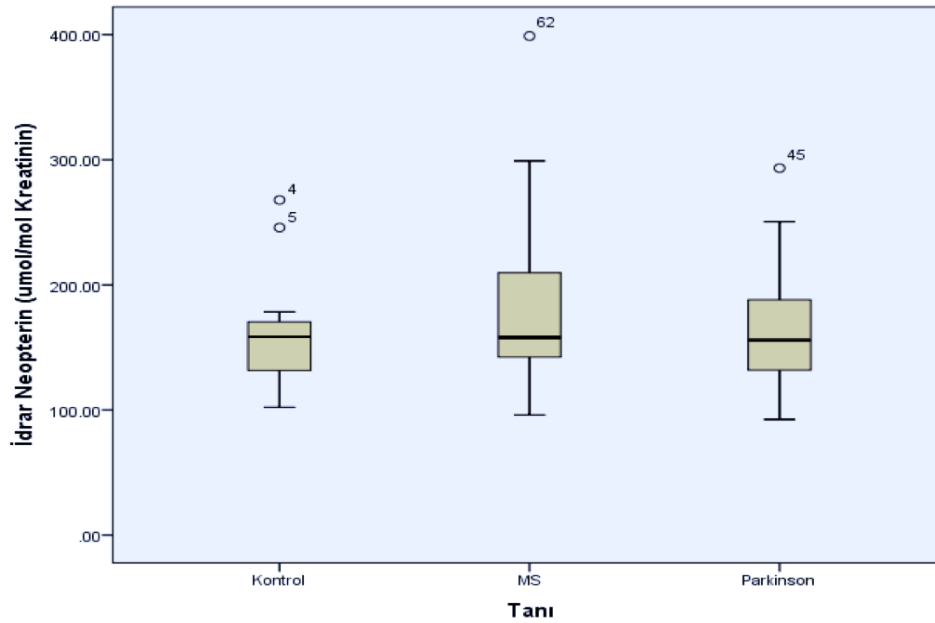
	Kontrol (n=20)		MS (n=37)		Parkinson (n=29)	
	Mean±SD	Median (Min-Max)	Mean±SD	Median (Min-Max)	Mean±SD	Median (Min-Max)
KYNA (nmol/ml)	3.37±2.29	2.31 (1.05-8.18)	3.31±2.94	1.78 (1.01-11.08)	2.6±2.72	1.75 (0.47-10.95)

4.5. İdrar Neopterin Düzeyleri

İdrar örneklerinde çalışılan neopterin düzeylerinin gruplara göre dağılımı Tablo 4.8.'de özetlenmiş ve Şekil 4.7.'de gösterilmiştir. $p=0,7$

Tablo 4.8. İdrar neopterin düzeylerinin gruplara göre dağılımı.

Tanı	Kontrol	İdrar Neopterin (umol/mol Kreatinin)	N	Mean	Standard Deviation	Minimum	Maximum	Median	Percentile 25	Percentile 75
						20	159,03	40,03	102,07	267,88
	MS	İdrar Neopterin (umol/mol Kreatinin)	37	174,04	59,72	95,91	398,93	158,00	142,35	209,65
	Parkinson	İdrar Neopterin (umol/mol Kreatinin)	29	162,99	48,46	92,42	293,34	155,82	131,93	187,94
	Total	İdrar Neopterin (umol/mol Kreatinin)	86	166,82	51,81	92,42	398,93	157,28	134,05	185,55



Şekil 4.7. İdrar neopterin düzeylerinin gruplara göre dağılımı.

Gruplara göre serumdaki Trp ($\mu\text{mol/L}$), Kyn ($\mu\text{mol/L}$), Kyn/Trp ($\mu\text{mol/mmol}$), Neopterin (nmol/L), KYNA (nmol/ml) ve QUIN (ng/ml) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). Gruplara göre serum laboratuvar bulgularının karşılaştırılması Tablo 4.9.'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Gruplara göre serum laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.

Grup	MS (n=37)		Parkinson (n=29)		Kontrol (n=20)		İstatistiksel analiz* Olasılık
	$\bar{X} \pm S. S.$	Medya n [IQR]	$\bar{X} \pm S. S.$	Medya n [IQR]	$\bar{X} \pm S. S.$	Medya n [IQR]	
Trp ($\mu\text{mol/L}$)	56,16 \pm 11,7 3	55,7 [19,0]	58,73 \pm 12,5 9	59,9 [21,0]	60,57 \pm 9,23	58,5 [15,5]	F=1,057 p=0,352
Kyn ($\mu\text{mol/L}$)	2,27 \pm 0,50	2,29 [0,6]	2,54 \pm 0,58	2,41 [0,7]	2,25 \pm 0,37	2,18 [0,6]	F=2,929 p=0,059
Kyn/Trp ($\mu\text{mol/mm}$ l)	41,57 \pm 12,1 1	39,2 [11,4]	44,45 \pm 10,5 1	40,8 [14,5]	38,16 \pm 8,52	36,4 [15,9]	$\chi^2=4,207$ p=0,122
Neopterin (nmol/L)	8,18 \pm 5,95	6,7 [3,9]	7,92 \pm 2,60	6,8 [3,7]	9,15 \pm 3,71	8,0 [4,2]	$\chi^2=3,405$ p=0,182
KYN A ($\mu\text{mol/ml}$)	3,31 \pm 2,94	1,78 [3,7]	2,59 \pm 2,71	1,75 [1,1]	3,33 \pm 2,24	2,42 [4,4]	$\chi^2=3,325$ p=0,190
QUIN (ng/ml)	14,76 \pm 12,8 0	9,4 [13,1]	11,61 \pm 12,4 8	7,7 [6,8]	14,67 \pm 10,2 8	8,2 [16,9]	$\chi^2=4,401$ p=0,111

*Normal dağılıma sahip olan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında "ANOVA" test (F-tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır. Normal dağılıma sahip olmayan verilerde "Kruskal-Wallis H" test (χ^2 -tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır.

Multipl skleroz alt gruplarına göre Trp ($\mu\text{mol/L}$), Kyn ($\mu\text{mol/L}$), Kyn/Trp ($\mu\text{mol/mmol}$), Neopterin (nmol/L), KYNA (nmol/ml) ve QUIN (ng/ml) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). MS alt gruplarında laboratuvar bulgularının karşılaştırılması Tablo 4.10.'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. MS alt gruplarına göre laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.

MS grubu Değişken	PPMS (n=11)		RRMS (n=11)		SPMS (n=11)		İstatistiksel analiz* Olasılık
	$\bar{X} \pm S. S.$	Medya n [IQR]	$\bar{X} \pm S. S.$	Medya n [IQR]	$\bar{X} \pm S. S.$	Medya n [IQR]	
Trp ($\mu\text{mol/L}$)	57,16 \pm 14, 12	55,0 [23,8]	56,56 \pm 13, 21	62,9 [25,7]	51,69 \pm 7,5 7	52,5 [11,4]	F=0,685 p=0,512
Kyn ($\mu\text{mol/L}$)	2,34 \pm 0,49	2,19 [0,4]	2,14 \pm 0,63	2,24 [1,0]	2,18 \pm 0,39	2,22 [0,7]	$\chi^2=0,317$ p=0,853
Kyn/Trp ($\mu\text{mol/mmol}$)	43,07 \pm 14, 64	39,2 [13,6]	39,45 \pm 15, 95	37,9 [13,5]	42,21 \pm 6,0 6	41,3 [8,1]	$\chi^2=3,292$ p=0,193
Neopterin (nmol/L)	10,03 \pm 9,7 3	7,8 [5,2]	7,61 \pm 3,93	6,7 [4,8]	6,67 \pm 3,16	5,5 [2,0]	$\chi^2=1,418$ p=0,492
KYNA (nmol/ml)	2,42 \pm 1,97	1,65 [0,7]	4,44 \pm 3,19	3,26 [4,6]	2,57 \pm 2,70	1,69 [0,6]	$\chi^2=4,576$ p=0,101
QUIN (ng/ml)	10,97 \pm 6,9 5	9,4 [3,4]	19,40 \pm 14, 02	12,2 [20,2]	11,98 \pm 12, 27	8,2 [6,0]	$\chi^2=5,064$ p=0,080

*Normal dağılıma sahip olan verilerde “ANOVA” test (F-tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır. Normal dağılıma sahip olmayan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında “Kruskal-Wallis H” test (χ^2 -tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır.

Parkinson grubundakilerin alt gruplarına göre Trp ($\mu\text{mol/L}$), Kyn ($\mu\text{mol/L}$), Kyn/Trp ($\mu\text{mol/mmol}$), Neopterin (nmol/L), KYNA (nmol/ml) ve QUIN (ng/ml) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). PH alt gruplarının laboratuvar bulgularının karşılaştırılması Tablo 4.11.'de gösterilmiştir.

Üç ana gruba, MS alt gruplarına, PH alt gruplarına göre laboratuvar bulgularında tek değişkenli analizlerde anlamlı fark çıkmamasına rağmen sınırda anlamlılıklar olabileceği düşünülerek “Binary Lojistik regresyon” çok değişkenli analizi uygulanmıştır. Buna bağlı olarak MS grubundakilerde; MS durumunu etkileyen faktörlerin incelenmesinde anlamlı bir parametre bulunamamışken, Parkinson durumunu etkileyen faktörlerde anlamlı parametreler mevcut olup Tablo 4.12.'de belirtilmiştir. PH risk durumuna göre yapılan Backward:LR lojistik regresyon analizi sonucunda; tüm laboratuvar bulguları kullanılarak optimal model tabloda verilmiştir. Modelde; Kyn/Trp ($\mu\text{mol/mmol}$) değerinin, Parkinson riskini etkileyen önemli bir parametre olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Kyn/Trp

($\mu\text{mol}/\text{mmol}$) değeri 1 birim arttığında, Parkinson riski %12,3 artacaktır (OR=1,123). Aynı şekilde, Neopterin (nmol/L) değerinin, Parkinson riskini etkileyen önemli bir parametre olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Neopterin (nmol/L) değeri 1 birim arttığında, Parkinson riski % 24,9 azalacaktır (OR=0,751).

Tablo 4.11. PH alt gruplarına göre laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.

Parkinson Değişken	GBA (n=9)		IP (n=10)		PARK (n=10)		İstatistiksel analiz* Olasılık
	$\bar{X} \pm S.S.$	Medya n [IQR]	$\bar{X} \pm S.S.$	Medya n [IQR]	$\bar{X} \pm S.S.$	Medya n [IQR]	
Trp (umol/L)	60,21±13,92	53,1 [26,9]	58,82±11,37	60,4 [16,9]	57,31±13,66	57,4 [21,1]	F=0,118 p=0,890
Kyn (umol/L)	2,27±0,48	2,33 [0,4]	2,85±0,71	2,75 [1,1]	2,47±0,42	2,46 [0,7]	F=2,796 p=0,079
Kyn/Trp (umol/mmol)	38,74±7,24	40,3 [14,1]	49,83±13,04	49,4 [20,3]	44,23±7,87	40,6 [13,3]	F=3,022 p=0,066
Neopterin (nmol/L)	8,03±2,40	7,9 [3,7]	7,88±3,37	6,7 [3,4]	7,86±2,12	7,1 [4,1]	F=0,011 p=0,989
KYNA (nmol/ml)	1,85±0,95	1,65 [0,8]	2,46±3,16	1,26 [1,7]	3,40±3,29	1,91 [2,6]	$\chi^2=3,657$ p=0,161
QUIN (ng/ml)	8,77±4,01	8,1 [5,9]	12,07±15,65	6,4 [10,0]	13,71±14,56	8,4 [13,6]	$\chi^2=0,843$ p=0,656

*Normal dağılıma sahip olan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında "ANOVA" test (F-tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır. Normal dağılıma sahip olmayan verilerde üç veya daha fazla bağımsız grubun ölçüm değerleriyle karşılaştırılmasında "Kruskal-Wallis H" test (χ^2 -tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır.

Tablo 4.12. PH risk durumu baz alınarak kurulan Lojistik Regresyon modeli.

Değişken	B	S.H.	Wald	Sd	P	OR	95% Güven Aralığı (OR)	
							Alt	Üst
Kyn/Trp ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$)	0,116	0,046	6,389	1	0,011	1,123	1,026	1,228
Neopterin (nmol/L)	-0,287	0,138	4,311	1	0,038	0,751	0,573	0,984
Sabit	-1,967	1,521	1,671	1	0,196	0,140		
CCR=75,5%	$\chi^2_{(8)}=4,634; p=0,796$							

MS grubunda EDSS skoru ile Trp ($\mu\text{mol}/\text{L}$), Kyn ($\mu\text{mol}/\text{L}$), Neopterin (nmol/L) ve KYNA (nmol/ml) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). MS grubundakilerin EDSS skoru ile Kyn/Trp ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$) pozitif yönde, zayıf derecede ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir ($r=0,352$; $p=0,033$). Kyn/Trp ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$) arttıkça, EDSS skoru artacaktır. MS grubunda EDSS skoru ile QUIN (ng/ml) negatif yönde, zayıf derecede ve istatistiksel olarak

anlamli ilişki tespit edilmiştir ($r=-0,375$; $p=0,022$). QUIN (ng/ml) arttıkça, EDSS skoru azalacaktır.

Parkinson grubundakilerin Hoehn Yahr evresi ile Trp ($\mu\text{mol/L}$) negatif yönde, zayıf derecede ve istatistiksel olarak anlamli ilişki tespit edilmiştir ($r=-0,456$; $p=0,013$). Trp ($\mu\text{mol/L}$) azaldıkça, Hoehn Yahr evresi artacaktır.

Parkinson grubundakilerin Hoehn Yahr evresi ile Kyn ($\mu\text{mol/L}$), Kyn/Trp ($\mu\text{mol/L}$), Neopterin (nmol/L), KYNA (nmol/ml) ve QUIN (ng/ml) açısından istatistiksel olarak anlamli farklılık yoktur ($p>0,05$). Hastalık evresi ile metabolik değerler arasındaki ilişki Tablo 4.13.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.13. Hastalık evresi ile metabolik ölçümler arasındaki ilişki.

Değişken	Korelasyon*	MS (n=37)	Parkinson (n=29)
		EDSS skoru	Hoehn Yahr evresi
Trp ($\mu\text{mol/L}$)	<i>r</i>	-0,131	-0,456
	<i>p</i>	0,439	0,013
Kyn ($\mu\text{mol/L}$)	<i>r</i>	0,120	-0,157
	<i>p</i>	0,480	0,417
Kyn/Trp ($\mu\text{mol/mmol}$)	<i>r</i>	0,352	0,277
	<i>p</i>	0,033	0,146
Neopterin (nmol/L)	<i>r</i>	0,039	-0,215
	<i>p</i>	0,821	0,262
KYNA (nmol/ml)	<i>r</i>	-0,271	-0,03
	<i>p</i>	0,105	0,987
QUIN (ng/ml)	<i>r</i>	-0,375	0,047
	<i>p</i>	0,022	0,807

*Normal dağılıma sahip olmayan iki nicel değişkenin ilişkilerinin incelenmesinde ‘‘Spearman’’ korelasyon katsayısı kullanılmıştır.

İdrar neopterin düzeylerinin kreatine oranlanarak elde edilen değerleri ($\mu\text{mol/mol}$ kreatin) MS, PH ve kontrol grupları arasındaki karŝılaŝtırmada anlamli bir farklılık bulunmamıştır. $p=0,07$. MS alt grupları arasında idrar neopterin ($\mu\text{mol/mol}$ kreatin) sonuçları Kruskal Wallis test ile karşılaştırıldığında anlamli bir fark bulunmamıştır. $p=0,471$. MS alt gruplarının idrar neopterin düzeyleri Tablo 4.14.'de gösterilmiştir.

Parkinson hastalığı alt gruplarının idrar neopterin düzeyleri ($\mu\text{mol/mol}$ kreatin) Kruskal Wallis test ile karşılaştırıldığında MS grubunda olduğu gibi anlamli bir fark bulunmamıştır. $p=0,145$. PH alt gruplarındaki idrar neopterin düzeyleri ($\mu\text{mol/mol}$ kreatin) Tablo 4.15.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.14. MS alt gruplarının idrar neopterin düzeylerinin dağılımı.

			N	Mean	Standard Deviation	Minimum	Maximum
Ms tipi	NMS	İdrar Neopterin ($\mu\text{mol/mol}$ Kreatinin)	4	191,63	36,28	144,97	226,56
	PPMS	İdrar Neopterin ($\mu\text{mol/mol}$ Kreatinin)	11	194,87	78,86	98,84	398,93
	RRMS	İdrar Neopterin ($\mu\text{mol/mol}$ Kreatinin)	11	159,63	60,21	95,91	299,14
	SPMS	İdrar Neopterin ($\mu\text{mol/mol}$ Kreatinin)	11	161,20	39,87	112,75	247,68

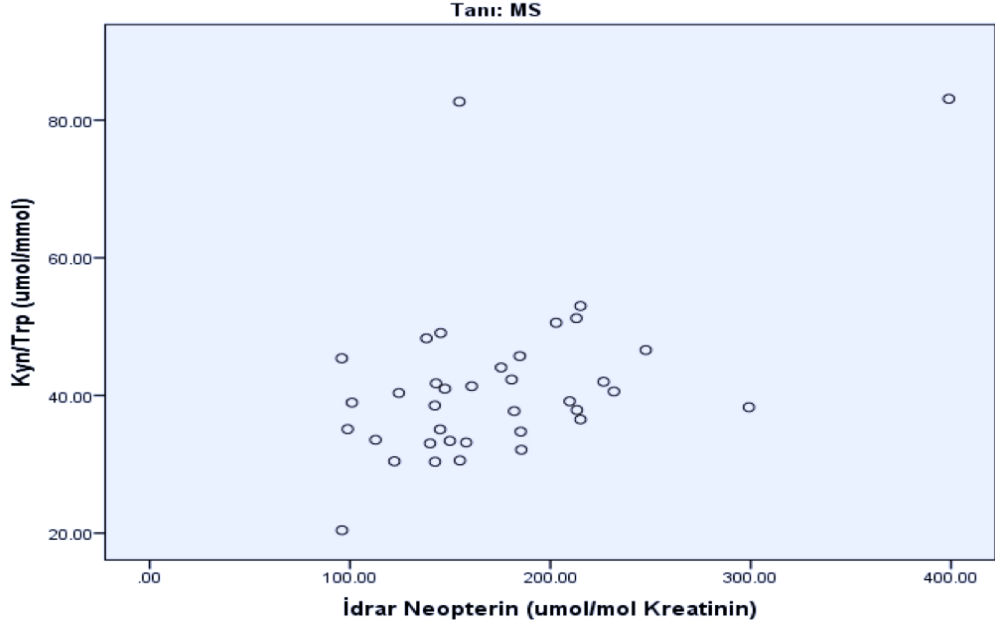
Tablo 4.15. PH alt gruplarında idrar neopterin düzeylerinin dağılımı.

			N	Mean	Standard Deviation	Minimum	Maximum
ParkinsonTipi	GBA	İdrar Neopterin ($\mu\text{mol/mol}$ Kreatinin)	9	140,65	37,79	92,42	197,02
	IP	İdrar Neopterin ($\mu\text{mol/mol}$ Kreatinin)	10	158,82	41,95	107,74	250,45
	PARK	İdrar Neopterin ($\mu\text{mol/mol}$ Kreatinin)	10	187,27	55,71	104,44	293,34

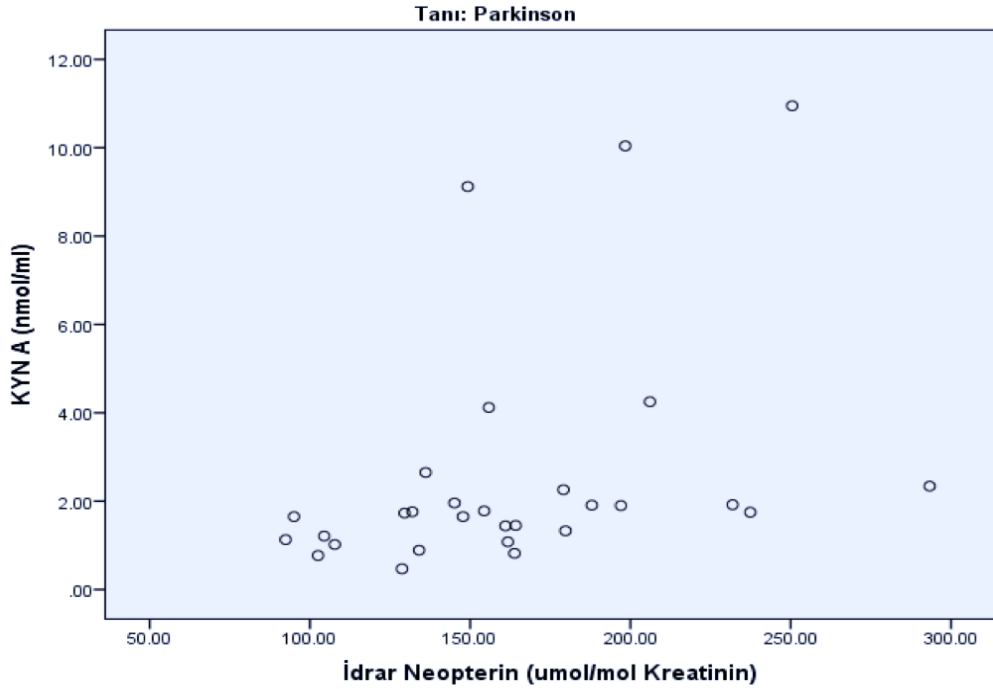
İdrar neopterin düzeyleri ($\mu\text{mol/mol}$ kreatin) ile hastalık yaşı, EDSS, Hoehn Yahr skalası arasında anlamlı bir korelasyon bulunmazken, serumda bakılan metabolitlerden Trp ve neopterin ile negatif yönde, Kyn/Trp ile pozitif yönde korelasyon bulunmuştur. Kyn, QUIN ve KYNA ile idrar neopterin düzeyi ($\mu\text{mol/mol}$ kreatin) arasında ise bir ilişki bulunmamıştır.

Multipl skleroz grubunda, idrar neopterin düzeyi ($\mu\text{mol/mol}$ kreatin) ile serum örneklerinde bakılan metabolitler karşılaştırıldığında, kontrol grubundan farklı olarak, Kyn/Trp oranı ile pozitif yönde korelasyon bulunmuştur ($p=0,027$). Diğer metabolitlerle anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. PH grubunda ise idrar neopterin düzeyi ($\mu\text{mol/mol}$ kreatin) ile yaş arasında negatif korelasyon bulunurken ($p=0,040$), sırasıyla QUIN ($p=0,002$) ve KYNA ($p=0,005$) ile pozitif korelasyon anlamlı bulunmuştur.

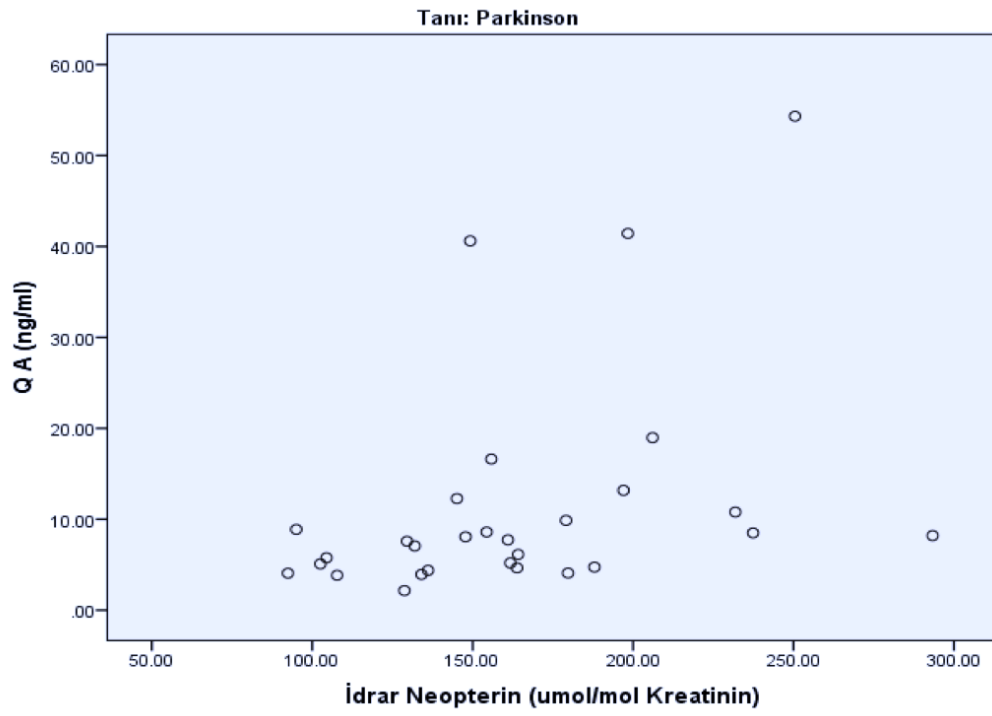
Multipl skleroz grubunda idrar neopterin ve serum Kyn/Trp arasındaki korelasyon Şekil 4.8.'de gösterilmiştir. PH grubundaki neopterin ile KYNA arası korelasyon Şekil 4.9.'da idrar neopterin düzeyi ile QUIN arası korelasyon ise Şekil 4.10.'da gösterilmiştir.



Şekil 4.8. MS grubu idrar neopterin düzeyi-serum Kyn/Trp arasındaki korelasyon.



Şekil 4.9. PH grubunda idrar neopterin-KYNA arasındaki korelasyon. ($p=0,02$)



Şekil 4.10. PH grubunda idrar neopterin-serum QUIN (QA) arasındaki korelasyon.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda MS,PH ile kontrol grubu olmak üzere üç grupta, inflamasyon ile artan IFN γ etkisiyle değişen pteridin, triptofan ve KY metabolitleri, serum ve idrar örneklerinde incelendiğinde; serum örneklerinde neopterin, Kyn, Trp, Kyn/Trp, KYNA, QUIN düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Neopterin serum düzeyinin MS hastalarında anlamlı farklı çıkmaması daha önce yapılmış olan Bagnato ve ark. çalışmasıyla benzerdir (107). Buna karşılık neopterin düzeyinin MS'deki atak ve progresyonla korele olduğunu gösteren çalışmalar da yapılmıştır (106). Bizim çalışmamızda hastalar bir kez değerlendirilmiştir. 6.ay, 12.ay kontrolleri olmadığı için progresyon ve atak dönemleri değerlendirilememiştir. PH'da serum neopterin düzeyi ile ilgili bir çalışmada serum neopterin düzeyinin arttığı gösterilmiştir (132). Bizim çalışmamızda ise PH grubunda serum neopterin düzeylerinde anlamlı bir artış bulunmamıştır. Her iki hastalıkta da serum neopterin düzeyinde anlamlı fark bulunmaması SSS hastalıklarının intratekal neopterin ile ilişkili olmasından ve serum konsantrasyonunun duyarsız olmasından kaynaklanabilir. Daha önce yapılmış BOS neopterin çalışmalarında anlamlı sonuçların bulunması bu fikri desteklemektedir (110).

Serum Trp, Kyn ve Kyn/Trp oranına baktığımızda MS ve PH grupları ile kontrol grup arasında anlamlı farklılık görülmedi. Daha önce yapılmış olan EAE çalışmalarında Trp yıkımında artış olduğu gösterilmiş ve MS çalışmalarında da KY aktivitesinin artıp, Trp düzeyi düşerken ve Kyn miktarının arttığı gösterilmiştir (104-5). Bizim çalışmamızda MS grubunda Trp düzeyinde farkedilir bir düşmeye ve Kyn artışına rastlamadık. Bununla beraber MS grubundaki hastaların EDSS skorları ile Kyn/Trp oranı arasında pozitif korelasyon olduğunu gördük ($r=0,352$; $p=0,033$). MS hastalık derecesi serum Kyn/ Trp oranı arttıkça artacaktır. Guillermin G.J. ve ark. çalışmasında da belirtildiği gibi KY enzim aktivitesinin inflamasyona yanıtı belirleyici rolü olması bu fikrimizi desteklemektedir (116). Bu sonuca bakarak MS hastalığında özürülük derecesini belirleyen faktörlerden birisinin KY aktivitesindeki artış olduğunu söyleyebiliriz. PH'da Trp düzeyi ile ilgili 2017 tarihli Oxenkrug G. Ve ark. yaptığı çalışmada Trp düzeyi düşerken, Kyn ve Kyn/Trp düzeyinin arttığı

görülmüştür (99). Bizim çalışmamızda PH grubunda da Trp, Kyn ve Kyn/Trp oranında anlamlı bir farklılık görülmedi. Bununla birlikte Hoehn Yahr evresi ile Trp arasında negatif korelasyon olduğu tespit edildi. Trp düzeyi azaldıkça Hoehn Yahr evresinde artış olacaktır.

Serum örneklerinde son olarak KY metabolitleri olan KYNA ve QUIN düzeylerine bakılmıştır. Daha önce yapılan fare modeli MS çalışmalarda serum QUIN düzeyinin arttığı ve bu artışın hastalık şiddeti ile ilişkili olduğu bulunmuştur (117). RRMS hastalarında da remisyon dönemi ile karşılaştırıldığında relaps döneminde QUIN düzeyi daha yüksek bulunmuştur (110). KYNA düzeyinin MS hastalarındaki seviyesi, önceki çalışmalarda BOS örneklerinde değerlendirilip düşük olduğu gösterilmiştir (119-21). Bizim çalışmamızdaki MS örneğinde serum KYNA ve QUIN düzeyleri kontrol ve PH grubundan farklı olmadığı görülmüştür. Bununla beraber MS grubunda EDSS ile QUIN düzeyi arasında zayıf da olsa anlamlı ilişki bulunmuştur ($r = -0.375$; $p = 0,022$). Bu korelasyona göre QUIN düzeyi arttıkça EDSS skoru azalacaktır. Bu sonuç literatür bilgileri ile uyumsuz olarak değerlendirilmiştir (117). MS grubunda relaps dönemi değerlendirilemediği için hastalığın aktif dönemindeki QUIN ve KYNA düzeyleri de değerlendirilememiştir. Bununla birlikte MS grubunda en çok kullanılan tedavinin ocrelizumap ve fingolimod gibi immun sistemi baskılayıcı tedaviler olması serumdaki metabolitlerde anlamlı bir fark bulmamızı engellemiş olabilir. Bu sebeple örneklerin tedavi öncesi dönemde alınması önem kazanmaktadır. Çalışmamızın PH grubunda da MS grubu gibi QUIN ve KYNA düzeyleri anlamlı farklı bulunmamıştır. Literatürde daha önce yapılmış olan çalışmalarda QUIN düzeyinin PH'da serum da arttığı gösterilmiştir (96, 100-1). PH'da BOS örneklerinde KYNA düzeyinin değerlendirildiği çalışmada ise KYNA düzeyinin düştüğü gösterilmiştir (97). PH'da KYNA düzeyinin kontrollerden yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (99). Bizim çalışmamızda PH grubunda QUIN/KYNA değerlendirildiğinde anlamlı bir fark bulunmamıştır.

İdrar neopterin düzeylerini gruplar arasında karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark olmadığını gördük. Daha önce MS grubunda yapılan çalışmalarda serum neopterin düzeyi ile ilgili tartışmalı sonuçlar bulunurken idrar neopterin düzeyinin özellikle atak zamanı arttığı ve tedavi yanıtı değerlendirmek için kullanılabileceği

bildirilmiştir (106-10). Bu çalışmalarda izlem süresinin uzun olduğu, 24 aya kadar takip ve ölçüm yapıldığı, atak dönemlerinin de kaydedildiği farkedilmiştir. Bizim çalışmamızda idrar neopterin düzeyi tek seferde bakılmıştır, takip süresi olmadığı ve hastaların bir kez değerlendirilmesi idrar neopterin sonuçlarını etkilemiş olabilir. Bununla birlikte çalışmamızda MS grubunda idrar neopterin düzeyi ile serum Kyn/Trp oranı arasında pozitif korelasyon olduğunu gösterdik. Triptofan yıkımı arttıkça paralel olarak üriner neopterin atılımı da artması KY ile pteridin metabolizmasının beraber tetiklendiğini göstermek açısından anlamlı bulunmuştur. Hücrel immün yanıt, IFN γ 'nın bu metabolik yollardaki düzenleyici enzimler üzerindeki benzer etkisi ile bu sonuç ilişkili olabilir. İdrar neopterin düzeyi ile serum Kyn/Trp arasında anlamlı ilişki varken serum Kyn ve Kyn/Trp oranından anlamlı fark çıkmaması, idrar konsantrasyonları ile serum konsantrasyonları arasındaki fark sebebiyle olabilir. Metabolitlerin idrar konsantrasyonları seruma göre daha yüksektir.

Parkinson hastalığında idrar neopterin düzeyine bakılan Campolo ve ark. yaptığı çalışmada, prodromal dönemde tanı amacıyla birçok inflamatuvar ve antioksidan belirteç bakılmıştır (133). İdrar neopterin düzeyi ile klinik, fonksiyonel ve biyokimyasal değişkenler arasında anlamlı korelasyon olduğu bulunmuştur. Prodromal dönemde olfaktor disfonksiyon ile idrar neopterin düzeyi arasındaki korelasyon gösterilmiştir. Tek başına değerlendirildiğinde ise kontrol grubu ile anlamlı bir fark görülmemiştir. Bizim çalışmamızda da PH grubunda idrar neopterin düzeyi kontrol ve MS grubundan anlamlı fark göstermemiştir. Parkinson altgrupları arasında da anlamlı fark görülmemiştir. Hastalık evresi ile de anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. Spearman's test ile bakıldığında PH grubunda idrar neopterin düzeyi ile yaş negatif korele iken KY metabolitleri olan QUIN ve KYNA arasında kuvvetli pozitif korelasyon bulunması pteridin metabolizması ile KY ilişkisini göstermek açısından anlamlı bulunmuştur.

Çalışmamız kesitsel, tek merkezli olduğundan ve PH genetik alt gruplarının nadir görülmesinden dolayı sınırlı sayıda hasta içermekte idi. Hasta sayısının azlığı, anlamlı çıkabilecek ilişkileri istatistiksel olarak anlamsız sonuçlandırmıştır. Bazı sonuçlarda p değerinin 0,05'e yakın olması, örneklem sayısının artması durumunda anlamlı sonuçların çıkabileceğini düşündürmüştür.

Hastaların hepsi tedavi altındadır. Çalışmada zaman kısıtlılığı dolayısıyla 6. ay, 12. ay takip dönemleri olmamıştır. Tedavi başlamadan önce hastalar çalışmaya alınmadığı için tedavisiz hasta parametreleri ortaya konulamamıştır. Tedavinin etkisini değerlendirmek mümkün olmadığı gibi hastalığın doğasını, patogenezi değerlendirmek de mümkün olmamıştır. Sadece MS grubunda dört adet tedavi almamış hasta çalışmaya alınmıştır. İstatiksel olarak yeterli olmadığından değerlendirmeye alınmamıştır.

Hastaların uzun süre takip süreci olmadığından özellikle MS grubunda atak anında metabolitlerin nasıl değiştiği gösterilememiştir. Hastaların atak ve atak dışı dönemde değerlendirilmesinin sonuçları değiştirebileceği düşünülmüştür. Böyle bir değerlendirme atak riskini belirleme konusunda da yardımcı olacaktır. Hastaların tanı konulduktan sonra tedavi öncesinde örneklerin alınması özellikle immün süpresif tedavilerin etkisiyle sonuçların değişmesini önleyecektir.

Triptofan metabolizmasının mikrobiom ve beslenme gibi çevresel faktörlerden de etkilenmesi, genişletilmiş çalışmalar ve metabolomiks çalışmalarıyla hastalık patogenezi aydınlatmada yeni bilgiler sağlayabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Multipl skleroz ve PH patogenezlerinde inflamasyon ve nörodejenerasyonun rol aldığı kronik nörolojik hastalıklardır. İnflamatuvar ve nörodejeneratif hastalıklarda pteridin metabolizması ve KY aktive olur. Bu aktivasyon, hücrel immun yanıtı aracılık eden IFN γ tetiklemesi ile olmaktadır. Pteridin metabolizması ve KY'nı MS ve PH'da değerlendirmek istediğimiz bu çalışmanın başlangıcında kurulan hipotez, iki hastalık grubunda metabolitlerdeki değişimin birbirine benzer olacağı, kontrol grubundan ise farklı olacağıydı. Çalışmanın sonucunda MS, PH ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Bununla birlikte MS grubunda hastalık derecesi ile Kyn/Trp düzeyi arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir. MS grubunda serum Kyn/Trp oranı ile idrar neopterin düzeyi arasında da pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur. MS hastalığında EDSS ile serum QUIN düzeyi arasında da negatif yönde ilişki olduğu tespit edilmiştir.

Parkinson hastalığı grubunda, Hoehn Yahr evresi ile serum Trp düzeyi arasında negatif yönde istatistiksel ilişki olduğu tespit edilmiştir. PH grubunda idrar neopterin düzeyi ile yaşın negatif korelasyonu, serum QUIN ve KYNA düzeyleri arasında da pozitif korelasyon olduğu görülmüştür. PH gelişme riskini etkileyen önemli bir etkenin Kyn/Trp olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda örneklem sayısının küçük olması, takip süresi olmayıp kesitsel olması ve tedavi öncesi dönemde örnek alınmaması sonuçları etkilemiş olabilir. Pteridinlerin ışık ve ısıya duyarlı olması, örnek taşınmasında dikkatli olunmasına rağmen sonuçlarda değişime sebep olmuş olabilir.

Buna karşılık daha önce MS ve PH birarada değerlendirip inflamasyon ve nörodejenerasyon arasındaki ilişki üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanmadığından özgün bir çalışma olduğunu söyleyebiliriz.

İnflamasyon ve nörodejenerasyon arasındaki ilişkinin pteridin ve KY üzerinden incelenmesinde daha büyük örnekleme, geniş zaman aralığında serum ve idrar metabolitlerinin monitorizasyonuna ve tedavi başlanmamış hastaların da dahil edildiği daha çok çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Kaufman S. Pteridine Cofactors. *Annu Rev Biochem.* 1967;36:171-84.
2. Carmona-Martinez V, Ruiz-Alcaraz A J, Vera M, Guirado A, Martnez-Esparza M, Garcia-Penarrubia P. Therapeutic potential of pteridine derivatives: A comprehensive review. *Med Res Rev.* 2019; 39(2): 461-516.
3. Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, Hausen A, Lang A, Niederwieser D, ve ark. Immune response-associated production of neopterin. Release from macrophages primarily under control of interferon- gamma. *J Exp. Med.* 1984;160(1):310-16.
4. Werner ER, Werner-Felmayer G, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Yim JJ, ve ark. Tetrahydrobiopterin biosynthetic activities in human macrophages, fibroblasts, THP-1 and T24 cells: GTP-cyclohydrolase 1 is stimulated by interferon-gamma, 6-pyruvoyltetrahydropterin synthase and sepiapterin reductase are constitutively present. *J Biol Chem* 1990;265:3189-92.
5. Nishikimi M. Afunction of tetrahydropteridines as cofactors for indoleamine 2, 3-dioxygenase. *Biohys Res Commun* 1975;63:92-8.
6. Nagatsu T, Ichinose H. Regulation of pteridine-requiring enzymes by the cofactor tetrahydrobiopterin. *Mol Neurobiol.* 1999;19(1):79-96.
7. Thöny B, Auerbach G, Blau N. Tetrahydrobiopterin biosynthesis, regeneration and functions. *Biochem J.* 2000;347(Pt1):1-16.
8. Bjelakovic G, Jevtovic-Stoimenov T, Bjelakovic B, Stojanovic I. Biochemical functions and clinical importance of unconjugated pteridines. *Facta Universitatis.* 2004;11(2):49-54.
9. Schroecksnadel K, Wirleitner B, Winkler C, Fuchs D. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clinica Chimica Acta.* 2006;364:82-90.
10. Pearl PL, Taylor JL, Trzcinski S, Sokohl A. The pediatric neurotransmitter disorders. *J Child Neurol.* 2007;22(5):606-16
11. Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Weiss G, Werner ER ve ark. Neopterin, biochemistry-methods-clinical application. Berlin: Walter de Gruyter. 1992.
12. Murr C, Widner B, Wirleitner B, Fuchs D. Neopterin as a marker for immune system activation. *Curr Drug Metab.* 2002;3(2):175-87.
13. Tüzün E. Multipl skleroz etiyolojisi. Beckmann Y, Uzunköprü C, editörler. *Multipl skleroz.* Ankara:EMA Tıp Kitabevi Yayıncılık;2021.
14. Wootla B, Eriguchi M, Rodriguez M. Is multiple sclerosis an autoimmune disease? *Autoimmune Dis.* 2012;2012:969657.
15. Sas K, Szabo E, Vecsei L, Mitochondria, oxidative stress and the kynurenine system, with a focus on ageing and neuroprotection, *Mol.* 2018;23(1):191.
16. Perez-De La Cruz V, Carrillo-Mora P, Santamaria A. Quinolinic acid, an endogenous molecule combining excitotoxicity, oxidative stress and other toxic mechanisms. *Int J Tryptophan Res.* 2012;5:1-8.
17. Lei S, Powers R. NMR metabolomics analysis of Parkinson's disease. *Curr Metabolomics.* 2013;1(3):191-209.

18. Sommer A, Winner B, Prots I. The Trojan horse - neuroinflammatory impact of T cells in neurodegenerative diseases. *Mol Neurodegener.* 2017;12(1):78.
19. Daubner SC, Fitzpatrick PF. Pteridines. 2004;3556-60.
20. Watt WB. Pteridine biosynthesis in the butterfly *Colias eurytheme*. *J Biol poChem.* 1967;242(4):565-72.
21. Foxtton RH, Land JM, Heales SJ. Tetrahydrobiopterin availability in Parkinson's and Alzheimer's disease; potential pathogenic mechanisms. *Neurochem Res.* 2007;32(4-5):751-6.
22. Girgin G. Çocuklarda pteridin yolağının değerlendirilmesi. Hacettepe Ü. Sağlık B. E. Farmasötik Toksikoloji Programı, Doktora Tezi, Ankara, 2009.
23. Kaufman S. The metabolic role of tetrahydrobiopterin; in Cooper BA, Whitehead VM, editors. *Chemistry and Biology of Pteridines.* Berlin, de Gruyter, 1986, pp:185-200.
24. Dhondt LJ, Hayte MJ, Fariaux PJ. Biosynthesis and metabolism of unconjugated pteridines in man. *Path Biol* 1989; 37: 283-295.
25. Gürcü S. Diyabet hastalarında pteridinlerin ve ilgili yolakların değerlendirilmesi. Hacettepe Ü.S.B.E. Farmasötik Toksikoloji Programı, Doktora Tezi, Ankara, 2018.
26. Vrecko K, Steadtler P, Mischak I, Maresch L, Reibnegger G. Periodontitis and concentrations of cellular immune activation marker neopterin in saliva and urine. *Clinica Chimica Acta.* 1997;268:31-40.
27. Fuchs D, Weiss G, Reibnegger G, Wachter H. The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation transplantation, inflammatory, infectious and malignant diseases. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1992;29(3-4):307-41.
28. Schroecksnadel K, Murr C, Winkler C, Wirleitner B, Fuith LC, Fuchs D. Neopterin to monitor clinical pathologies involving interferon γ production. *Pteridines* 2004;15:75-90.
29. Altındağ ZZ. Kanserli hastaların biyolojik sıvılarında neopterin ve dihidropteridin redüktaz (DHPR) aktivitesinin saptanması ve klinik öneminin değerlendirilmesi. Hacettepe Ü.S.B.E. Farmasötik Toksikoloji Programı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 1993.
30. Arat-Altındağ Z.Z. Şahin G. Neopterin ve klinik önemi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 1993;13:224-30.
31. Onat T., Emerk, K., Sözman E.Y. İnsan Biyokimyası. Ankara, 2002, Palme Yayıncılık
32. Taylor MW, Feng GS. Relationship between interferon-gamma, indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophan catabolism. *FASEB J.* 1991;5(11):2516-22.
33. Pantoja LG, Miller RD, Ramirez JA, Molestina RE, Summersgill JT. Inhibition of *Chlamydia pneumoniae* replication in human aortic smooth muscle cells by gamma interferon-induced indoleamine 2, 3-dioxygenase activity. *Infect Immun.* 2000;68(11):6478-81.
34. Schrotten H, Spors B, Hucke C, Stins M, Kim KS, Adam R, et al. Potential role of human brain microvascular endothelial cells in the pathogenesis of brain abscess: inhibition of *Staphylococcus aureus* by activation of indoleamine 2,3- dioxygenase. *Neuropediatrics.* 2001;32(4):206-10.
35. Girgin G, Sahin TT, Fuchs D, Yuksel O, Kurukahvecioglu O, Sare M, et al. Tryptophan degradation and serum neopterin concentrations in intensive care unit patients. *Toxicol Mech Methods.* 2011;21(3):231-5.

36. Girgin G, Sahin TT, Fuchs D, Kasuya H, Yuksel O, Tekin E, et al. Immune system modulation in patients with malignant and benign breast disorders: tryptophan degradation and serum neopterin. *Int J Biol Markers*. 2009;24(4):265-70.
37. Ozkan Y, Mete G, Sepici-Dincel A, Sepici V, Simsek B. Tryptophan degradation and neopterin levels in treated rheumatoid arthritis patients. *Clin Rheumatol*. 2012;31(1):29-34.
38. Schroecksnadel K, Winkler C, Fuith LC, Fuchs D. Tryptophan degradation in patients with gynecological cancer correlates with immune activation. *Cancer Lett*. 2005;223(2):323-9.
39. Chen Y, Guillemin GJ. Kynurenine Pathway Metabolites in Humans: Disease and Healthy States. *Int J Tryptophan Res*. 2009; 2: 1–19.
40. Schwarcz R, Bruno J.P, Muchowski P.J, Wu H.Q. Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology, *Nat. Rev. Neurosci*. 2012;13: 465–477.
41. Munn D.H, Mellor A.L. Indoleamine 2, 3 dioxygenase and metabolic control of immune responses, *Trends Immunol*. 2013;34:137–143.
42. Opitz C.A, Heiland I. Dynamics of NAD-metabolism: everything but constant, *Biochem. Soc. Trans*. 2015;43:1127–1132.
43. Guillemin G.J, Kerr S.J, Smythe G.A, Smith D.G, Kapoor V, Armati P.J, Croitoru J, Brew B.J. Kynurenine pathway metabolism in human astrocytes;a paradox for neuronal protection, *J. Neurochem*. 2001;78:842–53.
44. Chiarugi A, Meli E, Moroni F. Similarities and differences in the neuronal death processes activated by 3OH-kynurenine and quinolinic acid, *J. Neurochem*. 2001;77:1310–1318.
45. Guidetti P, Schwarcz R. 3-Hydroxykynurenine potentiates quinolinate but not NMDA toxicity in the rat striatum, *Eur. J. Neurosci*. 1999;11:3857–3863.
46. Venkatesan D, Iyer M, Narayanasamy A, Siva K, Vellingiri B. Kynurenine pathway in Parkinson's disease-An update. *eNeurologicalSci*. 2020;21:100270.
47. Pallotta, M.T, Orabona C, Volpi C, Vacca C, Belladonna L.M. et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a signaling protein in long-term tolerance by dendritic cells. *Nat. Immunol*. 2011;12: 870–878
48. Katz J.B, Muller A.J, Prendergast G.C. Indolamine 2.3-dioxygenase in T cell tolerance and tumoral immune escape. *Immunological Reviews*, 2008;222:206-21.
49. Brandacher G, Margreiter R, Fuchs D. Clinical relevance of indolamine 2.3-dioxygenase for alloimmunity and transplantation. *Current Opinion in organ transplantation*. 2008;13:10-5.
50. Munn, H. D, Mellor A. L. Indoleamine 2,3 dioxygenase and metabolic control of immune responses. *Trends Immunol*, 2013;34(3):137-43.
51. Mezrich, J.D, Fechner H.J, Zhang X, Johnson B.P, Burlingham W.J, et al. An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cells. *J. Immunol*. 2010;185:3190–8.
52. Pilotte, L, Larrieu P, Stroobant V, Colau D, Dolusic E, et al. Reversal of tumoral immune resistance by inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*. 2012;109:2497–502
53. Nguyen, N.T, Kimura A, Nakahama T, Chinen I, Masuda K, et al. (2010) Aryl hydrocarbon receptor negatively regulates dendritic cell immunogenicity via a kynurenine-dependent mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*. 2010;107:19961–6.

54. Wek, R.C, Jiang H-Y, Anthony T.G. Coping with stress: eIF2 kinases and translational control. *Biochem. Soc. Trans.* 2006;34(Pt 1):7–11.
55. Munn, D.H, Sharma M.D, Baban B, Harding H.P, Zhang Y, et al. GCN2 kinase in T cells mediates proliferative arrest and anergy induction in response to indoleamine 2,3-dioxygenase. *Immunity.* 2005;22(5):633–42.
56. Sundrud M.S, Koralov S.B, Feuerer M, Calado D.P, Kozhaya A.E, et al. Halofuginone inhibits TH17 cell differentiation by activating the amino acid starvation response. *Science.* 2009;324(5932):1334–8.
57. Keller T.L, Zocco D, Sundrud M.S, Hendrick M, Edenius M, et al. Halofuginone and other febrifugine derivatives inhibit prolyl-tRNA synthetase. *Nat. Chem. Biol.* 2012;8(3):311–7.
58. Favre, D, Mold J, Hunt P.W, Kanwar B, Loke P, et al. Tryptophan catabolism by indoleamine 2,3-dioxygenase 1 alters the balance of TH17 to regulatory T cells in HIV disease. *Sci Transl Med.* 2010;2(32):32ra36.
59. Powell, J.D, Pollizzi K.N, Heikamp E.B, Horton M.R. Regulation of immune responses by mTOR. *Annu Rev Immunol.* 2012;30:39–68.
60. Sas K, Szabó E, Vécsei L. Mitochondria, oxidative stress and the kynurenine system, with a focus on ageing and neuroprotection, *Molecules.*2018;23(1):191.
61. Perez-De La Cruz V, Carrillo-Mora P, Santamaria A. Quinolinic acid, an endogenous molecule combining excitotoxicity, oxidative stress and other toxic mechanisms. *Int J Tryptophan Res.* 2012;5:1–8.
62. Munn D.H, Mellor A.L, Indoleamine 2, 3 dioxygenase and metabolic control of immune responses, *Trends Immunol.* 2013;34(3):137–43.
63. Fang E.F, Scheibye-Knudsen M, Brace L.E, Kassahun H, SenGupta T, et al. Defective mitophagy in XPA via PARP-1 hyperactivation and NAD⁺/SIRT1 reduction, *Cell.*2014;157(4): 882–96.
64. Török N, Török R, Szolnoki Z, Somogyvari F, Klivenyi P, et al. The genetic link between Parkinson's disease and the kynurenine pathway is still missing, *Parkinsons Dis.* 2015;2015:474135.
65. Opitz C.A, Heiland I. Dynamics of NAD-metabolism: everything but constant. *Biochem Soc Trans.* 2015;43(6):1127–32.
66. Kennedy P.J, Cryan J.F, Dinan T.G, Clarke G. Kynurenine pathway metabolism and the microbiota-gut- brain axis. *Neuropharmacology.* 2017;112(PtB):399–412.
67. Cervenka I, Agudelo L.Z, Ruas J.L. Kynurenines: tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health, *Science.* 2017;357(6349):eaaf9794.
68. Lim C.K, Fernández-Gomez F.J, Braidy N, Estrada C, Costa C, et al. Involvement of the kynurenine pathway in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 2017;155:76–95.
69. Fang E.F, Lautrup S, Hou Y, Demarest T.G, Croteau D.L, et al. NAD⁺ in aging: molecular mechanisms and translational implications. *Trends Mol Med.* 2017;23(10):899–916.
70. Braidy N, Berg J, Clement J, Khorshidi F, Poljak A, et al. Role of nicotinamide adenine dinucleotide and related precursors as therapeutic targets for age-related degenerative

- diseases: rationale, biochemistry, pharmacokinetics, and outcomes. *Antioxid Redox Signal*. 2019;30(2): 251–94.
71. Platten M, Nollen E.A, Röhrig U.F, Fallarino F, Opitz C.A. Tryptophan metabolism as a common therapeutic target in cancer, neurodegeneration and beyond, *Nat Rev Drug Discov*. 2019;18(5):379–401.
 72. Castro-Portuguez R, Sutphin G.L. Kynurenine pathway, NAD⁺ synthesis, and mitochondrial function: targeting tryptophan metabolism to promote longevity and healthspan. *Exp Gerontol*. 2020;(132):110841.
 73. De Virgilio A, Greco A, Fabbrini G, Inghilleri M, Rizzo M I, et al. Parkinson's Disease: Autoimmunity and Neuroinflammation. *Autoimmunity Rev*. 2016;15(10):1005-11.
 74. Mhyre T.R, Boyd J.T, Hamill R.W, Maguire-Zeiss K.A. Parkinson's disease. *Subcell Biochem*. 2012;65:389–455.
 75. Lei S, Powers R. NMR metabolomics analysis of Parkinson's disease. *Curr Metabolomics*. 2013;1(3):191–209.
 76. Anglade P, Vyas S, Javoy-Agid F, Herrero M.T, Michel P.P, et al. Apoptosis and Autophagy in Nigral Neurons of Patients with Parkinson's Disease. *Histol Histopathol*, 1997;12(1):25-31.
 77. Pickrell A.M. and Youle R.J. The Roles of PINK1, Parkin, and Mitochondrial Fidelity in Parkinson's Disease. *Neuron*. 2015;85(2):257-73.
 78. Geisler S, Holmström K.M, Treis A, Skujat D, Weber S.S, et al. The PINK1/Parkin-mediated mitophagy is compromised by PD-associated mutations. *Autophagy*. 2010;6(7):871–8.
 79. Barodia S.K, Creed R.B, Goldberg M.S. Parkin and PINK1 functions in oxidative stress and neurodegeneration. *Brain Res Bull*. 2017 Jul, 133:51-9.
 80. Sliter D.A., Martinez J., Hao L., Chen X., Sun N., et al. Parkin and PINK1 mitigate STING-induced inflammation. *Nature* 561, 258-262.
 81. Yan J., Fu Q., Cheng L., Zhai M., Wu W. et al. Inflammatory response in Parkinson's disease. *Mol Med Rep*. 2014 Nov;10(5):2223-33
 82. Mount M.P., Lira A., Grimes D., Smith P.D., Faucher S., et al. Involvement of interferon-gamma in microglial-mediated loss of dopaminergic neurons. *J Neurosci*. 2007 Mar 21;27(12):3328-37.
 83. Aharon-Peretz J, Rosenbaum H, Gershoni-Baruch R. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med*. 2004;351(19):1972–7.
 84. Zimran A, Neudorfer O, Elstein D. The glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med*. 2005;352(7):728–31.
 85. Gan-Or Z, Giladi N, Rozovski U, Shifrin C, Rosner S, et al. Genotype-phenotype correlations between GBA mutations and Parkinson disease risk and onset. *Neurology*. 2008;70(24): 2277–83.
 86. Sidransky E. Gaucher disease: complexity in a "simple" disorder. *Mol Genet Metab*. 2004;83(1–2):6–15.
 87. Gan-Or Z, Liang C, Alcalay R.N. et al. GBA-Associated Parkinson's Disease and Other Synucleinopathies. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2018;18(8):44.

88. Gegg M.E, Burke D, Heales S.J.R, Cooper J.M, Hardy J, et al. Glucocerebrosidase deficiency in substantia nigra of parkinson disease brains. *Ann Neurol.* 2012;72(3):455–63.
89. Murphy K.E, Gysbers A.M, Abbott S.K, Tayebi N, Kim W.S, et al. Reduced glucocerebrosidase is associated with increased alpha-synuclein in sporadic Parkinson's disease. *Brain.* 2014;137(Pt 3):834–48
90. Parnetti L, Paciotti S, Eusebi P, Dardis A, Zampieri S, Chiasserini D, et al. Cerebrospinal fluid β -glucocerebrosidase activity is reduced in parkinson's disease patients. *Mov Disord.* 2017;32(10): 1423–31.
91. Alcalay R.N, Levy O.A, Waters C.H, Fahn S, Ford B, Kuo SH, et al. Glucocerebrosidase activity in Parkinson's disease with and without GBA mutations. *Brain.* 2015;138(Pt 9):2648–58.
92. Zunke F, Moise A.C, Belur N.R, Gelyana E, Stojkovska I, Dzaferbegovic H, et al. Reversible conformational conversion of α -synuclein into toxic assemblies by glucosylceramide. *Neuron.* 2018; 97(1):92–107.e10.
93. Tanji K., Mori F., Imaizumi T., Yoshida H., Matsumiya T., et al. Upregulation of alpha-synuclein by lipopolysaccharide and interleukin-1 in human macrophages. *Pathol Int.* 2002 Sep;52(9):572-7.
94. Kim J., Pajarillo E., Rizor A., Son D.-S, Lee J. Et al. LRRK2 kinase plays a critical role in manganese-induced inflammation and apoptosis in microglia. *PLoS One.* 2019 Jan 15;14(1):e0210248.
95. Sulzer D., Alcalay R.N., Garetti F., Cote L., Kanter E. et al. T cells of Parkinson's disease patients recognize α synuclein peptides. *Nature.* 2017;546:656-661.
96. Wikoff W.R, Anfora A.T, Liu J, Schultz P.G, Lesley S.A, Peters E.C, et al. Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites. *Proc Natl Acad Sci. U S A.* 2009;106(10):3698–703.
97. Sorgdrager F.J.H, Vermeiren Y, Van Faassen M, Van Der Ley C, Nollen E.A.A, Kema I.P, et al. Age- and disease-specific changes of the kynurenine pathway in Parkinson's and Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* 2019;151(5):656–68.
98. Silva-Adaya D, Pérez-De La Cruz V, Villeda-Hernández J, Carrillo-Mora P, González-Herrera I.G, García E, et al. Protective effect of L-kynurenine and probenecid on 6-hydroxydopamine-induced striatal toxicity in rats: implications of modulating kynurenate as a protective strategy. *Neurotoxicol. Teratol.* 2011;33(2) 303–12.
99. Oxenkrug G, van der Hart M, Roeser J, Summergrad P. Peripheral tryptophan- kynurenine metabolism associated with metabolic syndrome is different in Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Endocrinol, Diabetes Metab J.* 2017;1(4):2-5.
100. Chang K.H, Cheng M.L, Tang H.Y, Huang C.Y, Wu Y.R, Chen C.M. Alternations of metabolic profile and kynurenine metabolism in the plasma of Parkinson's disease. *Mol Neurobiol.* 2018;55(8): 6319–28.
101. Iwaoka K, Otsuka C, Maeda T, Yamahara K, Kato K, Takahashi K, et al. Impaired metabolism of kynurenine and its metabolites in CSF of parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2020;714:134576.
102. İdman E. Multipl Skleroz: İmmünopatogenetik özellikler. *Temel ve Klinik Nöroimmünoloji* 2013:191-205.

- 103.Kale N. Multipl sklerozun immunopatogenezi, nöroinflamasyon, demyelinizasyon, remyelinizasyon, nörodejenerasyon ve aksonal kayıp. Duman T, editör. Multipl Skleroz. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2020:1-4.
104. İdiman E. Multipl Skleroz'un İmmunopatogenezi. Türkiye Klinikleri Nöroloji özel Sayısı. vol 2, sayı 3, 2004;171-6.
- 105.Akbulut H. Multipl skleroz hastalarında serum neopterin düzeyleri. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi. 2005;25:178-82.
- 106.Giovannoni, G, Lai M, Kidd D, Thorpe J.W, Miller D.H, Thompson A.J, et al. Daily urinary neopterin excretion as an immunological marker of disease activity in multiple sclerosis. *Brain*. 1997;120(Pt1):1–13.
- 107.Bagnato F, Durastanti V, Finamore L, Volante G, Millefiorini E. Beta-2 microglobulin and neopterin as markers of disease activity in multiple sclerosis. *Neurol Sci*. 2003;5:S301–4.
- 108.Giovannoni G, Thompson A.J, Miller D.H, Thompson E.J. Fatigue is not associated with raised inflammatory markers in multiple sclerosis. *Neurology*. 2001;57(4):676–81.
- 109.Rejdak K, Leary S.M, Petzold A, Thompson A.J, Miller D.H, Giovannoni G. Urinary neopterin and nitric oxide metabolites as markers of interferon -1a activity in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2010;16(9):1066–72.
- 110.Dobson R, Topping J, Davis A, Thompson E, Giovannoni G. Cerebrospinal fluid and urinary biomarkers in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 2013;128(5):321-7.
- 111.Mangalam A, Poisson L, Nemitlu E, Datta I, Denic A, Dzeja P, et al. Profile of circulatory metabolites in a relapsing-remitting animal model of multiple sclerosis using global metabolomics. *J Clin Cell Immunol*. 2013; 4:10.4172/2155-9899.1000150.
- 112.Mandi Y, Vecsei L. The kynurenine system and immunoregulation. *J Neural Transm (Vienna)* 2012;119:197–209.
- 113.King IL, Dickendesher TL, Segal BM. Circulating Ly-6C+ myeloid precursors migrate to the CNS and play a pathogenic role during autoimmune demyelinating disease. *Blood*. 2009;113:3190–7.
- 114.Ajami B, Bennett JL, Krieger C, McNagny KM, Rossi FM. Infiltrating monocytes trigger EAE progression, but do not contribute to the resident microglia pool. *Nat Neurosci*. 2011;14:1142–9.
- 115.Mishra MK, Wang J, Silva C, Mack M, Yong VW. Kinetics of proinflammatory monocytes in a model of multiple sclerosis and its perturbation by laquinimod. *Am J Pathol*. 2012;181:642–51.
- 116.Guillemin GJ, Smith DG, Smythe GA, Armati PJ, Brew BJ. Expression of the kynurenine pathway enzymes in human microglia and macrophages. *Adv Exp Med Biol*. 2003;527:105–12.
- 117.Flanagan EM, Erickson JB, Viveros OH, Chang SY, Reinhard JF Jr. Neurotoxin quinolinic acid is selectively elevated in spinal cords of rats with experimental allergic encephalomyelitis. *JNeurochem*. 1995;64:1192–6.
- 118.Aeinehband S, Brenner P, Stahl S, Bhat M, Fidock MD, Khademi M, et al. Cerebrospinal fluid kynurenines in multiple sclerosis; relation to disease course and neurocognitive symptoms. *Brain Behav Immun*. 2016;51:47–55.

119. Rejdak K, Bartosik-Psujek H, Dobosz B, Kocki T, Grieb P, Giovannoni G, et al. Decreased level of kynurenic acid in cerebrospinal fluid of relapsing-on- set multiple sclerosis patients. *Neurosci Lett*. 2002;331:63–5.
120. Rejdak K, Petzold A, Kocki T, Kurzepa J, Grieb P, Turski WA, et al. Astrocytic activation in relation to inflammatory markers during clinical exacerbation of relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neural Transm (Vienn)*. 2007;114:1011–5.
121. Hartai Z, Klivenyi P, Janaky T, Penke B, Dux L, Vecsei L. Kynurenine metabolism in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 2005;112:93–6.
122. Schwarcz R, Bruno JP, Muchowski PJ, Wu HQ. Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology. *Nat Rev Neurosci*. 2012;13:465–77.
123. Chiarugi A, Meli E, Moroni F. Similarities and differences in the neuronal death processes activated by 3OH-kynurenine and quinolinic acid. *J Neurochem*. 2001;77:1310–8.
124. Sekine A, Okamoto M, Kanatani Y, Sano M, Shibata K, Fukuwatari T. Amino acids inhibit kynurenic acid formation via suppression of kynurenine uptake or kynurenic acid synthesis in rat brain in vitro. *Springerplus*. 2015;4:48.
125. Monaco F, Fumero S, Mondino A, Mutani R. Plasma and cerebrospinal fluid tryptophan in multiple sclerosis and degenerative diseases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1979;42:640–1.
126. Watzlawik JO, Wootla B, Rodriguez M. Tryptophan catabolites and their impact on multiple sclerosis progression. *Curr Pharm Des*. (2016) 22:1049–59.
127. Rothhammer V, Mascalfroni ID, Bunse L, Takenaka MC, Kenison JE, Mayo L, et al. Type I interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and central nervous system inflammation via the aryl hydrocarbon receptor. *Nat Med*. (2016) 22:586–97.
128. Gaetani L, Boscaro F, Pieraccini G, Calebresi B, Romani L, Filippo M.D, et al. *Front Immunol*. 2020;11:157
129. Gutierrez-Vazquez C, Quintana FJ. Regulation of the immune response by the Aryl hydrocarbon receptor. *Immunity*. 2018;48:19–33.
130. Puccetti P, Grohmann U. IDO and regulatory T cells: a role for reverse signalling and non-canonical NF- κ B activation. *Nat Rev Immunol*. 2007;7:817–23.
131. Lim CK, Bilgin A, Lovejoy DB, Tan V, Bustamante S, Taylor BV, et al. Kynurenine pathway metabolomics predicts and provides mechanistic insight into multiple sclerosis progression. *Sci Rep*. 2017;7:41473.
132. Widner B, Werner ER, Schennach H, Wachter H, Fuchs D. Simultaneous Measurement of Serum Tryptophan and Kynurenine by HPLC. *Clinical Chemistry*. 1997;43:2424-26
133. Campolo J, De Maria R, Cozzi L, Parolini M, Bernardi S. et al. Antioxidant and inflammatory biomarkers for the identification of prodromal Parkinson's disease. *J Neurol Sci*. 2016;370:167-172.

8. EKLER

8.1. Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 1223

Konu : **ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU**

Toplantı Tarihi : 21 HAZİRAN 2022 SALI
Toplantı No : 2022/11
Proje No : GO 22/202 (Değerlendirme Tarihi: 01.03.2022)
Karar No : 2022/11-39

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Meryem Aslı TUNCER'in sorumlu araştırmacı olduğu, Dr. Öğr. Gör. Nazire Pınar Acar ÖZEN, Doç. Dr. Gül YALÇIN, Doç. Dr. Gözde GİRGİN, Prof. Dr. Ferken BAYDAR ile birlikte çalışacakları ve Dr. Öğr. Üyesi İrfan YAVAŞ'ın yüksek lisans tezi olan, GO 22/202 kayıt numaralı "*Multipl Skleroz ve Parkinson Hastalarında Neopterin Düzeyi ve Kinürenin Yolağının İnflamasyon ve Nörodejenerasyon Üzerine Etkisi*" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, 22 Haziran 2022 – 22 Haziran 2023 tarihleri arasında geçerli olmak üzere etik açıdan **uygun bulunmuştur**. Çalışma tamamlandığında sonuçlarını içeren bir rapor örneğinin Etik Kurulumuza gönderilmesi gerekmektedir.

İZİNLİ

1. Prof. Dr. G. Burçay AYDIN	(Başkan)	8. Doç. Dr. Betül Çelebi SALTIK	(Üye)
2. Prof. Dr. M. Özgür UYANIK	(Başkan V.)	9. Doç. Dr. Hande Güneş DENİZ	(Üye)
3. Prof. Dr. Ayşe Kin İŞLER	(Üye)	10. Doç. Dr. Merve BATUK	(Üye)
4. Prof. Dr. Sibel PEHLİVAN	(Üye)	11. Doç. Dr. Gülten KOÇ	(Üye)
5. Prof. Dr. Nüket Paksoy İRBAYDAR	(Üye)	12. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR	(Üye)
6. Prof. Dr. Tolga YILDIRIM	(Üye)	13. Av. Buket ÇINAR	(Üye)

İZİNLİ

7. Doç. Dr. H. Tuna Çak ESEN (Üye)

8.2 Turnitin Orjinallik Raporu Ekran Görüntüsü

Multiple Skleroz ve Parkinson Hastalarında Neopterin Düzeyi ve Kinürenin Yolağının İnflamasyon ve Nörodejenerasyon Üzerine

Etkisi

Yazar İrfan Yavaş

Gönderim Tarihi: 29-Ağu-2023 03:24PM (UTC+0300) **Gönderim Numarası:** 2153417068

Dosya adı: Turnitin_i_in.docx (1.74M)

Kelime sayısı: 8595

Karakter sayısı: 60576

Multiple Skleroz ve Parkinson Hastalarında Neopterin Düzeyi ve Kinürenin Yolağının İnflamasyon ve Nörodejenerasyon Üzerine Etkisi


ORJİNALLİK RAPORU

% 18 BENZERLİK ENDEKSİ	% 17 İNTERNET KAYNAKLARI	% 5 YAYINLAR	% 8 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	------------------------------------	------------------------	--------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 6
2	acikerisim.nku.edu.tr İnternet Kaynağı	% 2
3	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
4	earsiv.medeniyet.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
5	libratez.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
6	eprints.gla.ac.uk İnternet Kaynağı	% 1
7	abone.turkiyeklinikleri.com İnternet Kaynağı	% 1
8	openaccess.ogu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1

8.3. Turnitin Dijital Makbuz




Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen:	İrfan Yavaş
Ödev başlığı:	Multiple Skleroz ve Parkinson Hastalarında Neopterin Düzey...
Gönderi Başlığı:	Multiple Skleroz ve Parkinson Hastalarında Neopterin Düzey...
Dosya adı:	Turnitin_i_in.docx
Dosya boyutu:	1.74M
Sayfa sayısı:	45
Kelime sayısı:	8,595
Karakter sayısı:	60,576
Gönderim Tarihi:	29-Ağu-2023 03:24ÖS (UTC+0300)
Gönderim Numarası:	2153417068



Copyright 2023 Turnitin. Tüm hakları saklıdır.

9. ÖZGEÇMİŞ

