

**T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**FİNGOLİMOD TEDAVİSİ BAŞLANAN MULTİPL SKLEROZ
HASTALARINDA TOTAL OKSİDATİF STRES VE TOTAL
ANTIOKSİDAN KAPASİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Recep YEVGi

**Tez Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Recep DEMİR**

**Uzmanlık Tezi
ERZURUM-2014**

İÇİNDEKİLER

ONAY.....	iii
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Multipl Skleroz	1
1.2. Tarihçe	1
1.3. Epidemiyoloji.....	1
1.4. Etiyoloji	2
1.4.1. Çevresel Faktörler.....	2
1.4.2. Genetik Yatkınlık.....	3
1.5. Fizyopatoloji	4
1.6. MS İmmunolojisi	5
1.7. Deneysel Otoimmün Ensefalomyelit.....	7
1.8. Klinik Belirtiler.....	8
1.9. Sınıflandırma	10
1.10. Tanı	11
1.11. Multipl Sklerozda Tedavi	13
1.11.1. Atak Tedavisi.....	13
1.11.2. Hastalık Seyrini Etkileyen Ajanlar (Atak Önleyici Tedavi).....	13
1.12. Oksidan ve Antioksidan Sistemler.....	15
1.12.1. Serbest Radikaller.....	15

1.12.2. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri	18
1.12.3. Antioksidan Savunma Sistemleri:.....	20
1.13. Total Antioksidan Kapasite (TAK)......	22
1.14. Total Oksidatif Stres (TOS).....	22
1.15. Multipl Skleroz ve Oksidatif Stres.....	23
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
2.1. Çalışmaya Alınma Kriterleri:.....	25
2.2. Çalışmaya Alınmama Kriterleri:.....	25
2.3. Biyokimyasal Analiz.....	26
2.4. Serum TOS Aktivitesi Tayini	26
2.5. Serum TAK Aktivitesi Tayini.....	27
2.6. İstatistiksel Analiz.....	27
3. BULGULAR.....	28
4. TARTIŞMA.....	33
KAYNAKLAR	38

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nın 20.12.2013 tarih ve 389 sayılı yazısı ile “ **Fingolimod Tedavisi Başlanan Multipl Skleroz Hastalarında Total Oksidatif Stres ve Total Antioksidan Kapasitenin Değerlendirilmesi** ” konulu tez konusunun araştırma görevlisi Dr. Recep YEVGİ tarafından çalışılması uygun görülmüştür. Seçilen konu incelenmek üzere Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu Başkanlığı'na görüşülmüş ve 26.12.2013 tarih ve 1 sayılı toplantısının 14 nolu kararı ile etik kurallara uygun görülmüştür. Çalışma Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı'na 24.12.2013 tarih ve 7 sayılı oturumunun 41 nolu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	SIGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	Kendisi	
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:14	Tarih: 26.12.2013		
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.			

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Hülya AKSOY	Biyokimya	Atatürk Üniversitesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Zekeriya AKTÜRK	Aile Hekimliği	Atatürk Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mustafa GÜL	Fizyoloji	Atatürk Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Hamit ACEMOĞLU	Tıp Eğitimi / Halk Sağlığı	Atatürk Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Zekai HALICI	Farmakoloji	Atatürk Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Doç. Dr. Zeynep ÇAKIR	Acil Tıp	Atatürk Üniversitesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. M. Hamidullah UYANIK	Tıbbi Mikrobiyoloji	Atatürk Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yrd.Doç.Dr. M. Erdem SAĞSOZ	Biyofizik	Atatürk Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐	
Uz. Dr. Fuat LALOĞLU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Sağlık Bakanlığı	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Av. Aslıhan ÖNAL	Hukuk	Sağlık Bakanlığı	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Şef Necla TILKIDOĞEN	Serbest	Sağlık Bakanlığı	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca çok değerli bilgi, beceri ve deneyimlerini benden esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr.Yalçın YILIKOĞLU'na, Prof. Dr.İBRAHİM İYİĞÜN'e, Prof. Dr. Hızır ULVİ'ye, Prof. Dr. Recep AYGÜL'e, Doç. Dr. Dilcan KOTAN'a, Yrd. Doç. Dr.Gökhan ÖZDEMİR'e, Yrd.Doç.Dr.Lütfi ÖZEL'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamda desteğini sürekli yanımda hissettiğim danışman hocam Yrd. Doç.Dr.Recep DEMİR'e, değerli hocalarım Prof.Dr.Hamit ACEMOĞLU'na, Prof.Dr.Abdülkadir YILDIRIM'a, Uzm.Dr. Elvin ALİYEV'e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, EMG teknisyenlerimiz Yakup KAVAZ ve Kubilay DADAK'a, Video EEG teknisyenimiz Hakan KAYA'ya, tüm servis hemşirelerimize ve nöroloji yoğun bakım personeline, servis ve poliklinik sekreterlerimize, servis çalışanlarımıza ayrı ayrı teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca karşılaştığım tüm zorluklara benimle birlikte göğüs geren sevgili eşime ve bitanecik kızımız Nilüfer Yaren'e, bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan ve tüm eğitimim boyunca hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan anne ve babama sonsuz teşekkür ederim.

Dr.Recep YEVGİ

Erzurum, 2014

ÖZET

Multipl skleroz (MS) merkezi sinir sisteminin kronik inflamatuvar demiyelinizan hastalığıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar MS patogeneğinde oksidatif stresin major bir rol oynadığını göstermektedir. Reaktif oksijen ve nitrojen türleri MS'in patolojik işaretlerinden olan miyelin ve oligodentrosit dejenerasyonunda anahtar rol oynamaktadır.

Çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Tıp fakültesi Nöroloji Anabilim Dalında Relapsing-Remitting MS tanısı ile izlenen ve ilk kez fingolimod tedavisi başlanan hastalarda fingolimod tedavisinin, total oksidatif stres (TOS) ve total antioksidan kapasite (TAK) üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda MS tanısı ile izlenen ve ilk kez fingolimod tedavisi başlanan 25 Relapsing-Remitting MS hastası ile 40 sağlıklı kontrol grubu alındı. Hastalardan fingolimod tedavisi başlanmadan önce ve fingolimod tedavisi başlandıktan 3 ay sonra serum örneği alınarak ayrı ayrı TOS ve TAK değerlendirildi.

Total oksidatif stres aktivitesi hazır ticari TOS Assay Kit (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kullanılarak, total antioksidan kapasite aktivitesi hazır ticari TAS Assay Kit (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kullanılarak ölçüldü.

Çalışmamızda MS hastalarında fingolimod tedavisi başlanmadan önce, TOS düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmış olduğu saptandı. MS hastalarında 0,5 mg/gün dozunda oral fingolimod tedavisi başlandıktan 3 ay sonra bakılan TOS düzeylerinin tedaviden önceki TOS düzeylerine göre anlamlı ölçüde düşüş gösterdiği saptandı. Çalışmamızda, fingolimod tedavisi başlanmadan önce MS hastaları ile kontrol grubu arasında TAK düzeyleri arasında fark saptanmadı. 0,5 mg/gün dozunda oral fingolimod tedavisinin 3. ayı sonunda yapılan TAK değerlendirmesinde tedavi öncesine göre hafif bir yükselme izlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik izlenmedi.

Anahtar Kelimeler: Fingolimod; oksidatif stres; antioksidan; multipl skleroz.

ABSTRACT

Multiple sclerosis (MS) is chronic inflammatory demyelinating disease of central nervous system. Recent studies indicate that oxidative stress plays a major role on MS pathogenesis. The types of reactive oxygen and nitrogen play a key role in the degeneration of oligodendrocytes and myelin which are pathologic indication of MS.

In our study we aimed to investigate the effects of fingolimod treatment on total oxidative stress (TOS) and total antioxidant capacity (TAC) of the patients diagnosed with relapsing-remitting MS and firstly started to be treated with fingolimod treatment at the Faculty of Medicine Neurology Department of Atatürk University.

The study was carried on 25 patients diagnosed with MS and firstly started to be cured with fingolimod treatment at Atatürk University School of Medicine Department of Neurology, along with a control group consisting of 40 healthy people. Samples of serum were taken from the patients three months before and after fingolimod treatment and TOS and TAC were assessed separately.

Total oxidative stress activity was measured by using handy commercial TOS Assay Kit (Rel Assay Diagnostics, Turkey) and total antioxidant capacity activity was measured by using TAC Assay Kit (Rel Assay Diagnostics, Turkey).

In our study, we found out that before starting the treatment of fingolimod on MS patients, the levels of TOS increased significantly in terms of control group ($p < 0,05$). It was also found out that the levels of TOS in MS patients which are controlled after starting the treatments of 0,5 mg/day dosage oral fingolimod reduced significantly in terms of the first levels of TOS.

In our study, we couldn't find distinction in TAC between control groups and the patients with MS before starting fingolimod treatment in the assessment of TAC carried out at the end of third month of the treatment of 0,5 mg/day dosage orally, a slight increase was observed in terms of before treatment but still a statistically significant distinction couldn't be seen ($p > 0,05$).

Key Words: Fingolimod, oxidative stress, antioxidant, multiple sclerosis

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ADEM	: Akut Dissemine Ensefalomiyelit
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CAT	: Katalaz
CL-LOOH	: Tert-butyl hydroperoxide-initiated chemiluminescence
DIS	: Uzay İçinde Dağılım
DIT	: Zaman İçinde Yayılım
DTR	: Derin Tendon Refleksi
EAE	: Deneysel Otoimmün Ensefalomiyelit
EDRF	: Endothelium Derived Relaxing Factor
EDSS	: Expanded Disability Status Scale
GA	: Glatiramer Asetat
GSH	: Redukte Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HNO₃	: Nitrik Asid
HOBr	: Hipobromik Asit
HOCl	: Hipoklorik Asit
HOI	: Hipoiodik Asit
ICAM	: Intracellular Adhesion Molecule
IFNδ	: İnterferon Gama
IL	: İnterlökin
INO	: İnternükleer Oftalmopleji
KBB	: Kan Beyin Bariyeri
KKMS	: Klinik Kesin MS
MBP	: Myelin Basic Protein
MDA	: Malondialdehid
MHC	: Majör Histokompatibilite Kompleksi
MOG	: Miyelin Oligodendrosit Glikoprotein
MP	: Metilprednisolon

MPO	: Myeloperoksidaz
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MS	: Multipl Skleroz
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
N2O3	: Dinitrojen Trioksit
NO	: Nitrik Oksit
NO2	: Nitrojen Dioksit
NOX	: NADPH Oksidaz
Nrf2	: Nuclear Factor-E2-related Factor
OKB	: Oligoklonal Bant
ONOO⁻	: Peroksinitrit
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
PLP	: Proteolipid Protein
PPMS	: Primer Progresif MS
PRMS	: Progresif Relapsing MS
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RR-MS	: Relapsing-Remitting MS
S1P	: Sfingozin-1-Fosfat
SOD	: Süperoksit dismutaz
SP-MS	: Seconder Progressif MS
SPSS	: Statistical Package For Social Sciences
TAK	: Total Antioksidan Kapasite
TBARS	: Thiobarbituric Acid Reactive Substances
TNF-α	: Tümör Nekrozing Faktör Alfa
TOS	: Total Oksidatif Stres
TRAP	: Total Radical-trapping Antioxidant Parameter
Treg:	: CD25 ^{hi} Regülatuvar T hücreleri
VCAM	: Vascular Cell Adhesion Molecule
8-ohdg	: 8-hidroksi-2'-deoksiguanosine

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Multipl Skleroz Tanısında McDonald Ölçütleri (2010)	12
Tablo 2. Sık görülen Serbest Oksijen Radikalleri ve Özellikleri.....	16
Tablo 3. Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynakları	16
Tablo 4. Başlıca Enzimatik Endojen Antioksidanlar	21
Tablo 5. Başlıca Non-Enzimatik Antioksidanlar	21
Tablo 6. Vaka ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyet Özellikleri.....	28
Tablo 7. MS Hastalarında Tedavi Öncesi ve Kontrol Grubu Ortalama TOS Düzeyleri	29
Tablo 8. MS Hastalarında Fingolimod Tedavisi Başlanmadan Önce ve Fingolimod Tedavisinin 3.Ayı Sonunda Ortalama TOS Düzeyleri.	30
Tablo 9. Kontrol Grubunda ve Fingolimod Tedavisinden Önce MS Hastalarında Ortalama TAK Düzeyleri.	31
Tablo 10. MS hastalarında Tedavi Öncesi ve 3.Aylarda Ortalama TAK Düzeyleri.....	31

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. MS Hastalarında Tedavi Öncesi ve 3.Aylarda TOS Düzeyleri.....	29
Şekil 2. Dönemler Arasında Ortalama TOS Düzeylerindeki Değişim.....	30
Şekil 3. MS Hastalarında Tedavi Öncesi ve 3.Aylarda TAK Düzeyleri.....	32
Şekil 4. Dönemler Arasında Ortalama TAK Düzeylerindeki Değişim	32

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Multipl Skleroz

Multipl Skleroz (MS) çoğunlukla genç yetişkinlikte başlayan Merkezi Sinir Sistemi (MSS)'nin birçok bölgesinde inflamasyon, demiyelinizasyon ve akson hasarı ile karakterize kronik bir hastalıktır. MSS'nin inflamatuvar demiyelizan hastalıklarının prototipidir ve en sık görülen, en iyi bilinen formudur.

1.2. Tarihçe

MS olarak dökümente edilen ilk olgunun 14. yy'da Hollanda'da yaşamış Lidvina the Virgin isimli 16 yaşında bir kadın hasta olduğu düşünülmektedir. Bu olguda ilk belirtiler yürüme güçlüğü, halsizlik şeklinde başlamış zamanla görme kaybı gelişmiştir. 1838 yılında Carswell ilk defa adı konulmamış bir MS hastasının patolojik bulgularını yayınlamıştır. 1849 yılında klinik patoloji uzmanı olan Friedrich, ilk kez MS tanısını klinik olarak bir hastaya koymuştur. Fransız nörolog Jean-Martin Charcot 1868 yılında MS'in en önemli klinik ve patolojik yönlerini ortaya koyan ilk tanımını yapmıştır. MS'in miyelinin öncelikli olarak tutulduğu ancak aksonun göreceli olarak korunduğu inflamatuvar-demyelinizan özellikte bir hastalık olduğu kavramını ortaya koymuş ayrıca patolojik süreci "Sclerose en plaques" olarak tanımlamıştır.

1.3. Epidemiyoloji

MS olgularının üçte ikisinde başlangıç yaşı 20-40 arasındadır. MS kadınlarda daha fazla görülür (1). Son yapılan çalışmalar MS insidansının kadınlarda artmakta olduğunu göstermektedir (2). Bu durumun sebebi bilinmemektedir (3). MS başlangıcı medyan ve ortalama yaşları sırasıyla 23.5 ve 30'dur. Pik başlangıç yaşı kadınlarda erkeklerden ortalama beş yaş daha erkendir. Relapsing- Remitting MS (RR-MS) ortalama 25-29 yaş aralığında başlamakta ve ortalama 40-44 yaşlarında Sekonder Progressif MS (SP-MS)'e dönüşebilmektedir. Primer Progressif MS ise ortalama 35-39 yaş arasında başlamaktadır.

MS insidans ve prevelansı coğrafik olarak farklılıklar göstermektedir (4,5). MS için en yüksek riskli bölgeler Rusya dahil tüm Avrupa, Kuzey Amerika, Kanada, Güney Avustralya ve Yeni Zelanda'dır. En yüksek prevalans 250/100.000 ile Orkney adalarındadır (6). Orta derecedeki riskli bölgeler; Güney Avrupa, Güney Amerika, Kuzey Avustralya, Güney Akdeniz bölgesi ve Güney Afrika'dır. Bu ülkelerdeki prevalans 5-29/100.000'dir. Düşük riskli bölgeler ise; Afrika ve Asya'nın geri kalan kısımları ve Meksika'dır. Prevalans 5/100.000'den daha düşüktür (7). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yaklaşık 250.000 MS hastası olduğu tahmin edilmektedir ve MS prevelansı 100/100.000 dür.

Türkiye'de yapılmış resmi bir prevelans ve insidens çalışması bulunmamakla birlikte, Kıbrıs Türk kesiminde yapılan bir epidemiyolojik çalışma sıklığının 24/100.000 olduğunu ortaya koymuştur. Türkiye hastalığının sık görüldüğü Kuzey Avrupa ile Asya arasında bir ara bölgede yer almaktadır. Sıklığının 2500 kişide 1 olduğu tahmin edilmektedir (8). İstanbul Maltepe'de MS prevalansının araştırıldığı bir çalışmada prevalans 101.4/100.000 olarak bulunmuştur (9). MS'de göç toplulukları üzerinde oldukça fazla epidemiyolojik çalışma yapılmıştır. MS prevalansının yüksek olduğu ülkelere riskin düşük olduğu bölgelere göç edenlerde eğer göç yaşı on beşin altında ise prevalans göç edilen ülkeye uymaktadır. On beş yaşından sonraki göçlerde ise prevalans terkedilen ülke ile uyum göstermektedir (10).

1.4. Etiyoloji

MS'in klinik ve patolojik olarak Charcot tarafından tanımlanmasının üzerinden yüz yıldan fazla bir süre geçmiş olmasına rağmen, hastalığın etyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır. Çalışmalar genetik yatkınlık zemininde çevresel faktörlerin rol oynadığını göstermektedir (11).

1.4.1. Çevresel Faktörler

Viral, bakteriyel enfeksiyonlar, beslenme alışkanlığı, evcil hayvan besleme, travma, kaza veya ameliyat, aşılar, gebelik, kimyasal ajanlar, metaller, organik çözücüler, iklim koşulları gibi bazı parametrelerin etyolojideki rolleri üzerinde oldukça geniş

araştırmalar yapılmıştır. Bu faktörlerle MS gelişme olasılığını inceleyen çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmektedir. MS, uzun yıllar bazı enfeksiyöz ajanların tetiklediğı bir hastalık olarak düşünölmüştür, fakat hastalardan şimdiye kadar her hangi bir spesifik virüs izole edilememiştir (12,13). MS'lilerde kızamık, kızamıkçık, kabakulak, suçiçeğı, herpes simpleks, parainfluenza, Epstein-Barr gibi bazı virüslara karşı antikor düzeyleri kontrollerden daha yüksek bulunmuşsa da bunun nedeninin hastaların immün-genetik yapılarındaki özellikten ötürü olacağı kanısına varılmıştır. Son yapılan çalışmalarda sigara içenler de hiç sigara içmeyenlere oranla daha yüksek MS gelişme riski olduğı gösterilmiştir (14,15). Son zamanlarda doğum ayının risk faktörü olabileceğı yönünde çalışmalar bulunmaktadır. 2013 yılında yapılan bir çalışmada Nisan ve Mayıs aylarında doğanlarda MS riski artmışken Ekim ve Kasım aylarında doğanlarda risk azalmış olarak bulunmuştur (16). Bu durum tartışmalı olmakla birlikte gestasyonel ve neonetal çevrenin hayatın ilerleyen dönemlerinde MS gelişim riskini etkilediğini desteklemektedir.

D vitamini düzeyi ve güneş ışığına maruz kalma miktarı ile MS gelişim riski arasında ters orantı olduğunu, D vitaminin MS'de koruyucu olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (17,18,19). Aşırı tuz tüketiminin, IL-17 üreten CD4 (+) T helper hücreleri (T_H17 hücreleri)'nin indüksiyonuna yol açıp proinflamatuvar sitokinlerin salınımına yol açarak deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) tablosuna yol açtığı gösterilmiştir (20). Bu durum aşırı tuzlu beslenmenin MS'e yol açan çevresel faktörlerden biri olabileceğini göstermektedir. MS'in otoimmün temelini destekleyecek şekilde tip 1 diabetes, inflamatuvar barsak hastalığı ve otoimmün tiroidit gibi otoimmün hastalığı bulunanlarda MS gelişme riskinin normal popölasyona göre artmış olduğı saptanmıştır (21,22).

1.4.2. Genetik Yatkınlık

Bazı ırklarda MS'in daha fazla görölmesi, ikizlerde konkordansın yüksek olması ve MS'lilerin birinci derece yakın akrabalarında MS'in daha sık görölmesi gibi nedenlerle genetik etkenlerin önemi giderek değeri kazanmaktadır. MS gelişme riski majör histokompatibilite kompleksinin (MHC) class I ve class II alelleri ile özellikle de HLA-DRB1 lokusu ile ilişkilidir (23). Artan kanıtlar MS riskinin multiple non-MHC yatkınlık

genlerinin ılımlı etkisi ile bağlantılı olduğunu göstermektedir (24). Ek olarak IL-7R gen polimorfizmi de MS riskini hafif olarak artırabilir (25).

MS, beyaz ırkta daha fazla görülür. Siyah ırkta nadirdir. Afrikalı zencilerde hemen hemen hiç görülmezken Amerikalı zencilerde beyazlardan daha az görülür. MS ve genetik ilişkisini inceleyen çalışmalar içerisinde ikiz çalışmalarının ayrı bir önemi bulunmaktadır. İkizlerde yapılan çalışmalar dizigotik ikizlerde MS gelişme riskinin %3-5 monozigotik ikizlerde ise % 20-39 arasında artmış olduğunu göstermiştir (26). Konkordans oranlarının mono ve dizigotik ikizlerde farklı olması bu hastalıkta birden fazla genin rolünün olduğunu yani MS'in poligenik bir hastalık olduğunu düşündürmektedir. MS hastalarının yaklaşık %15'inde ailede etkilenmiş bir başka birey daha vardır; en yüksek risk ise hastanın kardeşlerindedir. Danimarka'da yapılan bir çalışmada MS hastalarının birinci derece akrabalarında MS gelişme riski 7 kat daha fazla bulunmuştur (27).

1.5. Fiziopatoloji

Fokal MS lezyonları MSS'de herhangi bir lokalizasyonda görülebilmekle birlikte; ven ve venüllerin etrafında yerleşmeye eğilimi olduğundan, en çok periventriküler ve subkortikal beyaz cevherde, optik sinirler ve kiazmada, serebellar pedinküllerde ve spinal kordun lateral kolonunda görülür. Lezyonlar değişik yaşlarda olabilir ve yaşlarına göre farklı mikroskopik görünüm verirler. Eski lezyonlar gri, sıklıkla translusent ve sert alanlar olarak görülür. Mikroskopik olarak da plaklarda mielin kılıfı tamamen kaybolur, aksonal kayıp ve mikrogliyal skar dokusu vardır. Yeni lezyonlar ise makroskopik olarak daha yumuşak ve pembe renkli görünürler. Mikroskopik olarak demiyelinizasyon belirginken, skar dokusunun az olduğu görülür. Aktif lezyonlarda inflamatuvar T ve B lenfositler, plazma hücreleri, aktif makrofajlar ve mikrogliya hücreleri var iken, inaktif lezyonlarda inflamasyon bulguları yoktur ve oligodendrositlerdeki kayba bağlı olarak hücre yoğunluğu azalmıştır. MS'de tanısal patolojik belirleyicinin beyaz cevher ve spinal korddaki demiyelinizan plaklar olduğu söylenmekle birlikte, artık günümüzde sürecin bu şekilde açıklanamayacağı ortaya konmuştur. Nitekim, beyaz cevherde miyelin kaybı yanı sıra aksonal kayıp, remiyelinizasyon, kan beyin bariyeri (KBB)'nde bozulma da hastalığın farklı evrelerinde görülmektedir. MS'in sadece beyaz cevheri tutmadığı,

kortekste de demiyelinizasyon ve atrofiye neden olduğu patolojik incelemelerde izlenebilmektedir.

1.6. MS İmmunolojisi

MS patolojisi; beyin ve spinal kordda fokal primer demiyelinizan plaklar ve inflamatuvar bir süreç şeklinde tanımlanmaktadır. İnflamasyon T hücreleri, aktive makrofaj veya mikroglia hücreleri tarafından oluşturulur. Aktif lezyonlarda bu inflamatuvar süreç KBB yıkımı, proinflamatuvar sitokinler ve kemokinlerin lokal ekspresyonu ile birliktedir. Demiyelinizasyona değişik derecelerde akut aksonal yıkım ve aksonal kayıp eşlik eder.

Aktive olmuş immün hücrelerin taşıdıkları selektin, KBB ligandları ile etkileşime geçerek hücrelerin endotel üzerinde yuvarlanmalarını ve integrin adezyon molekülleri de bağlanmalarını sağlarlar. Aktive immün sistem hücreleri, endotel hücreleri veya hasarlı doku tarafından salgılanan kemokinler integrin aktivasyonunu arttırarak, daha güçlü bir tutunmaya katkıda bulunurlar (28). Kemokinler ayrıca uygun reseptöre sahip hücrelerin kimyasal gradientin kaynağına doğru göçünü de yönetmektedirler. İmmün sistem hücrelerince “matriks metalloproteinazlar” gibi enzimlerin salınımı da ayrıca bazal membranın yapısını bozarak, dokuya infiltrasyonu kolaylaştırır (29). Ek olarak endotelial hücreler gibi immün olmayan hücrelerde mekanizmalara karışarak MSS’de inflamasyona neden olmaktadır. Bütün bu mekanizmalar MS’te KBB’nin yapısının hasara uğrayarak geçirgenliğinin bozulması ve bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonunun kolaylaşması ile sonuçlanırlar. Bu bozulma aktif lezyonlarda görülse de inaktif kronik plaklarda da az derece bozulma bulunmuştur.

Sağlıklı deney hayvanlarına myelin spesifik CD4 (+) T hücrelerinin enjeksiyonu ile deneysel allerjik ensefalomyelit (EAE) tablosu oluşturulabildiği için, MS’in temel olarak CD4 (+) T hücre aracılı bir hastalık olduğu hipotezi öne sürülmüştür. Ancak bu bulgular MS lezyonlarının immün patolojisi ile tam bir benzerlik sergilememektedir. CD8 (+) T hücrelerinin de MS patolojisinde önemli bir rol üstlendikleri anlaşılmış, MS plaklarında CD8 (+) T hücrelerinin klonal ve oligoklonal olarak çoğaldıkları gösterilmiştir. Miyelin proteinlerine spesifik CD4 (+) T hücreleri MS hastalarının kanlarında ve

beyin omurilik sıvılarında (BOS) tespit edilmiştir. Fakat bu hücrelerin ayrıca sağlıklı kontrollerde de bulunmuş olmaları, varlıklarının doğrudan hastalıkla ilişkilendirilebilmesini zorlaştırmaktadır (30). MS hastalarında Th1 sitokin düzeylerinde artış (IL-2, IFN-gama, TNF-alfa gibi) Th1 sitokin profiline sahip T hücrelerinin MS hastalarından izole edilmeleri ve MS'in belli MHC sınıf II antijenleri ile bağlantılı olduğunun gösterilmesi bu hipotezi destekleyen bulgular olarak ileri sürülmektedir.

MS'in immünopatogenezinde tahminen periferdeki bir süperantijenin veya moleküler taklit yoluyla miyelin spesifik T hücre aktivasyonunun yer aldığı düşünülmektedir. T-Lenfositler başta myelin basic protein (MBP) olmak üzere diğer miyelin antijenlerine (Proteolipid protein(PLP), Miyelin oligodendrosit glikoprotein (MOG), Heat shock protein vs...) karşı otoreaktif hale gelir (31). Otoreaktif T hücreleri bilinmeyen mekanizmayla reaktif olur ve kan-beyin bariyerini geçerek MSS'ne girer. Burada perivasküler antijen sunan hücreler otoreaktif T hücrelerinin aktivasyonu için gerekli olan sinyalleri oluştururlar ve Th1 hücrelerinden proinflamatuvar sitokin (Tümör nekrozing faktör alfa (TNF- α), İnterferon gama(IFN δ), Lenfotoksin, IL-1 ve IL-2) salınımını başlatırlar. TNF α , IFN δ gibi sitokinler astrosit ve lökositlerin kemokin salgılanmasını ve adezyon molekülleri Intracellular adhesion molecule (ICAM), Vascular cell adhesion molecule (VCAM)'ın endotelial hücreler tarafından ekspresyonunu stimüle ederler. Kronik hastalık süresince VCAM-1 ve ligandı VLA-4 T hücrelerde up-regüle edilmiştir. Böylece inflamasyon sürdürülür. VLA-4 antikor tedavisinin (natalizumab) MS ataklarını ve lezyon oluşumunu azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir.

Aktive T hücrelerin beyine invazyonu ve MSS içinde yeniden aktive olması sitokin kaskadını başlatır. IL-2, IFN- γ ve TNF- α makrofajları aktive eder, sonrasında nitrik oksit ve TNF- α salınımı olur. Deneysel modellerde miyelin hasarına, doğrudan TNF- α hasarı ve kompleman sistemi ile tetiklenmiş por oluşumu aracılık etmektedir.

Hücre aracılı immün sistem hastalığı olarak değerlendirilen MS ve EAE'nin patogenezinde T hücrelerinin rolü ön planda ele alınsa da, MS hastalarında humoral immün cevabın önemi yeni verilerle ortaya konmaktadır. Son zamanlarda bildirilen MS patoloji çalışmaları; patogeneizde B hücrelerinin önemli katkısına dikkat çekmektedir. B hücrelerinin MS patogenezinde önemli bir rol oynadığını düşündüren en önemli bulgu-

lar; hem kronik MS plaklarında hem de akut MS lezyonlarında plazma hücrelerinin, miyeline spesifik antikorların ve muhtemelen bu antikorlar tarafından etkinleştirilmiş kompleman faktörlerinin yıkım ürünlerinin varlığıdır. Ayrıca, IgG ve kompleman birikimlerinin özellikle aktif miyelin yıkımının olduğu lezyon bölgelerinde saptanması antikorların lezyon oluşumunda etkin rol oynadığı yönündeki varsayımları desteklemektedir. B hücrelerinin MS patogeneğinde aktif rol oynadığını gösteren diğer bulgular; intratekal Ig üretimi ve sadece BOS'da bulunan oligoklonal bantların varlığı, antikorları temizleyen plazmaferez ve B lenfositleri hedefleyen rituksimab gibi monoklonal antikor tedavilerinin MS bulgularını iyileştirmesi ve MS hastalarının BOS'larının B hücre, plazmablast ve IgM düzeyleri ile klinik progresyon ve kontrast tutan lezyon sayısı arasında korelasyon olmasıdır (32).

MS patogeneğinde rol oynayan hücrelerden biriside başka bir CD 4(+) T hücre tipi olan CD4(+) CD25^{hi} regülatuar T hücreleri (Treg) dir. Treg hücrelerinin fonksiyonu otoreaktif efektör Th1, Th2 ve Th17 hücrelerini regüle etmektir. MS hastalarına ait Treg hücreleri ile normal bireylere ait Treg hücreleri arasında sayı ve fenotip bakımından fark bulunmadığı bildirilmiştir (33). Fakat sağlıklı kontrollere ait Treg hücreleri, otoreaktif efektör T hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederken; MS hastalarına ait Treg hücreleri ise proliferasyonu inhibe etmekte etkisiz kalmaktadırlar. Bu bilgiler MS hastalarında primer regülatuar defektin Treg hücrelerinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Bu bulgular hücrel ve humoral immün yanıtın hastalığın patogeneğinde önemli bir rolü olduğunu gösteriyor olsa da, bu hücrelerin özgüllükleri ve hastalıktaki rolleri hala açıklığa kavuşturulmayı beklemektedir.

1.7. Deneysel Otoimmün Ensefalomiyelit

EAE, MS ile benzerlik gösteren bir hayvan modelidir. EAE, MSS'nin T hücre aracılı otoimmün demiyelinizan hastalığıdır. Hastalık primatlar dahil birçok deneysel laboratuvar hayvanında tam beyin homojenatı veya adjuvan içinde emülsifiye MBP, PLP veya MOG'un saflaştırılmış preparatlarının subkütan enjeksiyonu ile oluşturulabilir. İmmünizasyon protokollerini veya hayvan neslini değiştirerek hastalığın relapsing

remitting veya kronik şekilleri oluşturulabilir. MOG kullanılarak oluşturulan modellerde, nöroinflamasyon yanında demiyelinizasyon, oligodendrosit kaybı, aksonal ve nörolojik dejenerasyon olabildiği gösterilmiştir. Bunlar MS'in esas nöropatolojik özellikleridir. EAE'de demiyelinizasyon, ensefalitojenik T hücre yanıtı ile birlikte antikor yanıtının etkisine bağlanmaktadır (34,35).

1.8. Klinik Belirtiler

MS semptom ve bulguları plakların yerleşim yeri ve sayısına bağlı olarak çeşitlilik gösterir. Erken semptomlar arasında paresteziler, görme bozuklukları, yürüme bozuklukları ve beyin sapı sendromları bulunmaktadır.

Optik nörit, görme yolları tutulumunun en sık görülen tipidir. Göz hareketleri ile tetiklenen unilateral akut yada subakut göz ağrısı ile karakterizedir. Bu durumu genellikle santral vizyonun etkilendiği çeşitli derecelerdeki görme kaybı (skotom) takip eder. MS'de bilateral optik nörit görülmesi nadirdir. Bitemporal hemianopsi ve homonim görme alanı defektleri MS'de nadiren görülebilir. Akut optik nörit lezyonu eğer optik sinir başını da tutmuşsa göz dibi muayenesinde papil ödemi görülebilir. Bu durum çocuklarda yetişkinlere göre daha fazla görülür. MS de genellikle retrobulber optik nörit görülür bu hastalarda göz dibi muayenesi akut dönemde normal olarak değerlendirilir. Daha sonra optik disk akson kaybı ve gliosis sonucunda soluklaşır. Bu solukluk optik diskin temporal segmentlerinde daha belirgindir. Akut optik nörit atağı geçiren hastaların %90'ında iki ile altı ay arasında vizyon tamamen normale döner.

İnternükleer oftalmopleji (INO) MS'in klasik bir bulgusu olup medial longitudinal fasikulusun tutulduğunu işaret eder. Yapılan muayenede lateral bakışta addüktör parezisi bulunduğunu ve abdüksiyon yapan gözde nistagmus olduğunu ortaya koyar. Konverjans korunmuş olabilir.

Duyusal semptomlar MS' in en fazla görülen başlangıç semptomudur ve MS hastalarının neredeyse tamamı hastalığın herhangi bir döneminde duyuşsal semptomlardan yakınır. Belirtiler genellikle bacaklarda veya gövdede uyuşma, karıncalanma, iğnelenme, gerginlik, soğukluk ya da şişlik olarak açıklanmıştır. Özellikle alt torasik ve

abdominal bölgelerde radiküler ağrılar görülebilir. Yüzde duyu kaybı, trigeminal nevralji, fasial miyokimi yada hemifasial spazm genç hastalarda MS'in başlangıç semptomu olabilir. Unilateral fasial paralizi MS'de görülebilir fakat hemen hemen tüm hastalarda tat duyusu korunur.

Lhermitte belirtisi, boynu pasif fleksiyona getirmekle boyundan aşağıya doğru yayılan elektriklenme hissine benzer bir geçici sensörial semptomun ortaya çıkmasıdır. Fakat bu bulguya servikal bölge patolojilerinde de rastlanır. Nedeni demiyelinize aksonların gerilmesi ve basınca karşı aşırı duyarlı olmasıdır.

Motor semptom olarak spastik ve ataksik paraparezi gelişebilir. Paraparezi ve parapleji, MS lezyonlarının genellikle spinal kordun inen motor traktını etkilemesinden dolayı üst ekstremitelerde kuvvetsizliğine göre daha fazla görülür. Bunun yanı sıra monoparezi, hemiparezi ve kuadriparezi (veya pleji)'de görülebilir. Şiddetli spastisite görülebilir. Derin tendon reflekslerinde (DTR) artış, klonus ve ektansör plantar yanıt alınabilir.

Paroksizmal semptomlar MS'de 1-2 saniye veya dakika süren, gün boyu tekrarlayan, nörolojik defisit bırakmayan fakat MS için oldukça tipik kabul edilen bulgulardır. En sık paroksizmal diplopi, fasial paresteziler, trigeminal nevralji, ataksi ve dizartri görülür. Ekstremitelerde ağırlı tonik kontraksiyonlar görülebilir. Nedeni tam olarak bilinmese de genellikle lezyon içindeki komşu demiyelinize aksonlardaki enine geçiş bundan sorumlu tutulmaktadır. Paroksizmal semptomlar düşük doz karbamezapin tedavisine genellikle iyi yanıt verirler.

Uhthoff fenomeni MS hastalarında var olan semptomların vücut ısısında meydana gelen küçük artışlarla geçici olarak daha kötüleşmesidir. Bu fenomen muhtemelen vücut ısısının artışı sonucu santral yollarda meydana gelen ileti bloğu sonucu oluşmaktadır (36). Demiyelinize sinirler ileti bloğu sıcaklık noktasına normalde çok daha düşük sıcaklıklarda ulaşırlar.

Mesane, bağırsak ve seksüel fonksiyon bozuklukları MS hastalarında görülebilir. Hastalarda konstipasyon, üriner inkontinans, üriner sistem enfeksiyonları, seksüel disfonksiyon görülebilir.

Mental değişiklikler hastaların büyük bir kısmında varsa da bunlar başlangıçta sinsidir. Hastanın moodunda değişiklik sık görölmekte olup bu depresyon ve frontal lob disinhibisyonunu içerir. Hastaların %5’inde konvülsiyonlar bulunmakta olup belirgin bir demans da gelişebilir (37).

Epilepsi MS hastalarında normal popölasyona oranla daha fazla görülür. MS hastalarının %2-3’ü hastalıklarının herhangi bir evresinde nöbet geçirebilmektedir. Bunun nedeni serebral korteks veya komşu beyaz maddedeki lezyonlardır. Tonik klonik yada kompleks parsiyel nöbetler daha sık görülür. Genellikle benign ve antiepileptiklere iyi yanıt verirler. MS ve epilepsi hastalarının %11 inde dirençli nöbet gelişebilir.

Depresyon MS hastalarının üçte ikisinde görölmektedir. Bu oran başka herhangi bir kronik hastalığı bulunanlara göre daha yüksek olarak saptanmıştır. Son yapılan çalışmalar interferon tedavisinin MS hastalarında depresyon gelişimini kolaylaştırdığını göstermektedir.

1.9. Sınıflandırma

Klinik seyir olarak dört değişik MS formu belirlenmiştir:

RR-MS: MS’in klasik formudur. MS hastalarının %85-90’ı RR-MS olarak başlamaktadır. Ataklar arasında klinik olarak stabil periyotlar vardır. Ataklar tam veya kısmi iyileşme ile sonlanır. Ataklar arasında hastalık progresyon göstermez. 10 yıl içinde %50-80 oranında SP-MS’e dönüşür (38,39).

SP-MS: Relapsing –Remitting form sıklıkla değişken bir süre sonunda fakat en çok 30’ lu yaşların sonunda sekonder progresif forma dönüşür. Kadınlarda daha sıktır.

PP-MS: Hastalık hızla ilerleyen ancak arada düzelme olmayan bir seyre sahiptir. %10-15 oranında görülür. Hastalığın başlangıcından beri yavaş ve devamlı nörolojik bozukluk söz konusudur. Her iki cinsde eşit görülür. 35-40 yaş gibi daha ileri yaşlarda başlar.

Progresif Relapsing Form: Multipl skleroza ait progresif gidiş olup beraberinde tamamen düzelme izlenmeyen relapslarında olaya katıldığı bir paterndir. %5'den daha az görülür. Önceleri yavaş seyirli nörolojik bozukluk varken daha sonra buna relapslar eklenir.

Multipl Skleroz Varyantları

Marburg Tipi, Balo'nun Konsantrik Sklerozu, Schilder Hastalığı, Akut Dissemine Ensefalomyelit (ADEM), Devic Hastalığı (Nöromiyelitis Optika) MS'in diğer varyantlarıdır.

1.10. Tanı

MS tanısı klinik bulgular yanında, manyetik rezonans görüntüleme (MRG)'de beyin lezyonlarının zamansal ve uzaysal dağılımı, BOS incelemesi, uyarılmış potansiyeller gibi yardımcı tanısal incelemeler de kullanılarak koyulur. Herşeye rağmen bu testlerin tanısal duyarlılık ve özgüllüğü sınırlıdır (40). MS tanısında zaman zaman revize edilen tanı ölçütleri kullanılmaktadır. Bu amaçla ilk olarak Poser ölçütleri kullanılmıştır. 2001 yılında McDonald ölçütleri benimsenmiştir. McDonald ölçütleri 2005 ve 2010 yılında revize edilmiştir. Halen 2010 McDonald tanı ölçütleri kullanılmakta olup bu revizyon ile ölçütler oldukça basite indirgenmiştir. McDonald 2010 ölçütlerinde esas olarak olabildiğince az MRG tetkiki, kontrast kullanımı ve laboratuvar inceleme hedeflenmiştir. Klinik kesin MS (KKMS) tanısı için şu iki kavram oldukça önemlidir. Bu kavramlar Zaman İçinde Yayılım (Dissemination in Time) (DIT) ve Uzay İçinde Dağılım (Dissemination in Space) (DIS)'dir. KKMS tanısı için DIT ve DIS ölçütleri pozitif olmalıdır.

DIS: Klinik veya radyolojik olarak farklı iki bölgeye ait tutulumu ifade etmektedir. Radyolojik olarak aşağıdaki dört yerleşimden en az ikisinde tutulum olması gerekmektedir (41).

- a. Jukstakortikal
- b. Perikallosal

c. İnfratentorial

d. Medulla spinalis

DIT: Klinik olarak farklı zamanda iki atak ile bu ölçüt karşılanır. Radyolojik olarak ise tekrarlayan MRG'lerde yeni lezyon varlığı veya aynı MRG'de en az bir adet kontrast tutan ve en az bir adet kontrast tutmayan lezyon varlığı DIT ölçütlerini karşılar (41).

DIS veya DIT ölçütlerinin pozitifliğini göstermesinde klinik bulgulara MRG yardımcı olmaktadır. Ancak bu ölçütlerin varlığından bahsetmek için hastada mutlaka bir klinik bulgu olmalıdır. Olmadığı durumlarda izlenen radyolojik lezyonlar ile MS tanısı konmaz. Bu durumda Radyolojik İzole Sendrom ile hasta izlenir.

Tablo 1. Multipl Skleroz Tanısında McDonald Ölçütleri (2010) (41)

Klinik Bulgu	MS Tanısı için ek gerekenler
≥2 atak; ≥2 nesnel klinik lezyon	Ek inceleme gerektirmez.
≥2 atak; 1 nesnel klinik lezyon	Mekanda yayılımı gösteren; MS için tipik olan santral sinir sisteminin 4 bölgesinden (periventriküler, jukstakortikal, infratentorial veya spinal kord) en az 2 sinde ≥1 T2 lezyonu; veya Santral sinir sisteminin farklı bir bölgesinde bir sonraki klinik atağı bekle.
1 atak; ≥2 nesnel klinik lezyon	Zamanda yayılımı gösteren; Herhangi bir zamanda kontrast tutan ve tutmayan lezyonların eş zamanlı bulunması; veya baz alınan görüntülemenin zamanına bakmaksızın bir sonraki MRG'de yeni bir T2 lezyonu ve/veya Kontrast tutan lezyon(lar)ın olması; veya İkinci klinik atak için bekle.
1 atak; 1 nesnel klinik lezyon (klinik izole sendrom)	Zamanda ve mekanda yayılımı gösteren; Mekanda yayılım için; MS için tipik olan santral sinir sisteminin 4 bölgesinden (periventriküler, jukstakortikal, infratentorial, veya spinal kord) en az 2sinde

	≥ 1 T2 lezyonu; veya Santral sinir sisteminin farklı bir bölgesinde ikinci klinik atağı bekle. Zamanda yayılım için; Herhangi bir zamanda kontrast tutan ve tutmayan lezyonların eş zamanlı bulunması; veya baz alınan görüntülemenin zamanına bakmaksızın bir sonraki MRG’de yeni bir T2 lezyonu ve/veya Kontrast tutan lezyon(lar)ın olması; veya İkinci klinik atak için bekle.
Primer Progresif MS	1 yıldan beri hastalık progresyonu ve aşağıdaki 3 kriterden 2’sinin bulunması Mekanda yayılımı gösteren periventriküler, jukstakortikal, infratentorial bölgelerde ≥ 1 T2 lezyonu Mekanda yayılımı gösteren spinal kord’da ≥ 2 T2 lezyonu Pozitif BOS incelemesi (oligoklonal bant(OKB) pozitif ve/veya artmış IgG indeksi)

1.11. Multipl Sklerozda Tedavi

1.11.1. Atak Tedavisi

MS ataklarının başlıca tedavisi kortikosteroidlerle yapılmaktadır. Steroid tedavinin nasıl uygulanması gerektiğine dair de fikir birliği yoktur. Farklı steroid preparatları, farklı dozlar ve farklı uygulama yolları kullanılabilir. Bugün en yaygın kabul gören atak tedavisi 5 ile 7 gün boyunca 1000 mg/gün IV metilprednisolon (MP) verilmesidir.

1.11.2. Hastalık Seyrini Etkileyen Ajanlar (Atak Önleyici Tedavi)

MS’te hastalık seyrini etkileyen, atak önleyici ve özür lülüğün ilerleyişini yavaşlatan tedaviler 1990’ların başından itibaren kullanılmaya başlanmıştır. MS’in seyri ve ilerlemesi üzerinde etkili olan uzun dönem tedaviler iki ana başlık altında toplanabilir:

a) İmmunmodulator tedaviler: İnterferonlar (İnterferon β -1a, İnterferon β -1b), Glatiramer asetat, Natalizumab, Fingolimod b) İmmunsupresif tedaviler: Mitoksantron, Siklofosfamid, Azathioprin, Metotreksat.

İnterferon β -1a ve İnterferon β -1b MS tedavisinde kullanılan interferonlardır. Glatiramer asetat (GA) MBP’inde sıklıkla bulunan dört aminoasitin düzensiz bileşimidir; nüksü ve özür lülüğü azaltmaya yönelik kullanılan bir başka tedavidir. Natalizumab, yineleyici MS’de kullanılan lökosit yüzeyindeki alfa 4 integrine karşı bir monoklonal antikordur.

Fingolimod, 2010 yılı sonlarında ABD’de yineleyici MS için onay alan ilk oral kullanılan ilaç oldu. Daha sonra Avrupa Birliği’nde ve 2011 yılı Nisan ayında da Türkiye’de ruhsat aldı. Fingolimod doğal sfingozinin bir yapısal analogudur. Fingolimod bir sfingozin-1-fosfat (S1P) reseptör düzenleyicisidir. Fingolimod sfingozin kinazla aktif metaboliti fingolimod-fosfata metabolize edilir. Sfingozin 1-fosfat, inflamasyon ve onarımda önemli rol oynayan doğal bir bioaktif sfingolipiddir. Bağışıklık sisteminde S1P sinyali lenfositlerin lenf nodlarından dışarı çıkışını düzenler (42). S1P bazı lenfositlerin yüzeyinde bulunan S1P1 reseptörlerine bağlanarak onları aktive eder ve lenf nodlarından kan dolaşımına çıkışlarını düzenleyerek inflamasyon bölgesine ulaşmalarını sağlar. Oral fingolimod lenfositler ve nöral hücreler üzerindeki sfingozin1-fosfat reseptör modülasyonunu gerçekleştirir. Fingolimod beş S1P reseptöründen dördüne bağlanarak lökosit dolaşımında, nörojenez ve nöral hücre işlevlerinde, endotel hücre işlevlerinde, vazoregülasyonda ve kardiyovasküler gelişimde rol oynar (43). Fingolimod lenfositler üzerindeki S1P1 reseptörlerini işlevsel olarak baskılayarak, lenfositlerin lenf dokusu ve kan arasındaki S1P gradyanı boyunca hareket etmelerini imkansız kılarak, lenf nodlarından lenfositlerin çıkışını önler (internalizasyon). Bu da otoreaktif T- ve B-lenfositlerin MSS gibi inflamasyon bölgelerine ulaşmasını önler. Fingolimod sadece lenfoid organlarda dolaşan lenfositleri tutabilir (CCR7+). Fingolimodun tutabildiği hücre tipleri arasında naiv T-hücreleri, merkezi bellek T-hücreleri (Th17’ler dahil) ve B-hücreleri sayılabilir. Öte yandan, daha çok dokularda veya kanda bulunan efektör bellek T-hücreleri etkilenmez. Oral fingolimod MS hastalarının dolaşımındaki IL-17 üreten TH17 bellek T-hücre sayısını belirgin olarak azaltır (44). Bu durumda pro-inflamatuvar TH17 hücrelerin MSS’ine geçişleri de belirgin olarak azalacaktır. Oral fingolimod len-

fositleri yok etmeden redistribüsyona yol açar. Önemli sayıda lenfosit lenf nodu içinde hapsedileceğinden, periferik kan lenfosit sayısında azalma görülmesi beklenen bir farmakodinamik etkidir. Fingolimod lipofilik özelliğinden dolayı S1P reseptörlerinin yaygın olarak bulunduğu MSS'ine kolayca geçebilir.

1.12. Oksidan ve Antioksidan Sistemler

1.12.1. Serbest Radikaller

Atomlarda elektronlar orbital adı verilen uzaysal bölgede çiftler halinde bulunurlar. Serbest radikal, atomik yada moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere "oksidan moleküller" veya "reaktif oksijen türleri (ROS) da denmektedir. Serbest radikaller bütün canlı hücrelerde fizyolojik miktarlarda üretilirler. Aşırı üretildiklerinde hücre ve doku hasarına neden olurlar. Serbest radikallerin bu etkileri antioksidan adı verilen kimi enzim ve moleküller tarafından ortadan kaldırılır. Bütün organizmalarda serbest radikal üretimi ile antioksidan savunma mekanizmaları arasında hassas bir denge vardır. Oksidatif stres; serbest oksijen radikallerinin üretimi ile bunların antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılması arasındaki dengesizlikten kaynaklanmaktadır. Hücre ve dokularda meydana gelen serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri hücre metabolizmasında oksijen içeren pek çok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir.

Tablo 2. Sık Görülen Serbest Oksijen Radikalleri ve Özellikleri

Radikaller	Ozellikleri
Hidrojen Radikali - $H^{\cdot}$	Bilinen en basit radikal
Süperoksit radikali- $O_2^{\cdot-}$	Oksijen metabolizmasının ilk ana ürünü
Hidroksil radikali- $OH^{\cdot}$	En toksik oksijen metaboliti
Singlet oksijen- $^1O_2$	Yarılma ömrü kısa, güçlü oksidatif oksijen formu
Hidrojen peroksit H_2O_2	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Perhidroksi radikal $HO_2^{\cdot}$	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır
Peroksil radikali $ROO^{\cdot}$	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili , lipidlere lokalize olur.
Triklorometil radikali $CCl_3^{\cdot}$	CCl_4 metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal
Thyl radikali $RS^{\cdot}$	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil $RO^{\cdot}$	Organik peroksitlerin yıkını ile üretilen oksijen metaboliti
Nitrojen oksit NO	L-arjinin aminoasitinden in vivo üretilir
Nitrojen dioksit NO_2	NO 'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

Mitokondrilerdeki oksijenli solunumda olduğu gibi birçok anabolik ve katabolik işlemler sırasındaki reaksiyonlarda moleküler düzeyde elektron kaçışları olur ve bu sırada ROS'lar oluşur. Tablo 3’de ROS'ların in vivo ortamda kaynakları görülmektedir.

Tablo 3. Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynakları

I - Normal biyolojik işlemler
1 - Oksijenli solunum
2 - Katabolik ve anabolik işlemler
II - Oksidatif stres yapıcı durumlar
1 - İskemi - hemoraji - travma - radyoaktivite - intoksikasyon
2 - Ksenobiotik maddelerin etkisi
a-) İn hale edilenler
b-) Alışkanlık yapan maddeler
c-) ilaçlar
3 - Oksidan enzimler
a-) Ksantin oksidaz
b-) İndolamin dioksijenaz
c-) Triptofan dioksijenaz

d-) Galaktoz oksidaz

e-) Siklooksigenaz

f-) Lipooksigenaz

g-) Monoamino oksidaz

4 - Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu

5 - Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma

(nötrofil, monosit, makrofaj, eosinofil,

endotelyal hücreler)

6 - Uzun süreli metabolik hastalıklar

7 - Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara

III - Yaşlanma süreci

Aerobik organizmalar için serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir. Normal metabolizmanın yanı sıra hiperoksia, inflamasyon, radyasyonla artan oksijen metabolizması süperoksit, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksite oluşumunu artırır. Klinik uygulamalarda kullanılan birçok preparat özellikle antineoplastik ajanlar örneğin adriamycin, daunorubicin ve aktiviteleri için quinoid gruplar ya da metallere gereksinim duyan antibiyotikler oksijenin serbest radikallerini açığa çıkarabilirler. Bu preparatların kemoterapötik etkilerinin ve sitotoksik yan etkilerinin pek çoğu oksijeni süperoksit radikallerine, hidrojen peroksit ve hidroksil radikale indirgeme yeteneklerine bağlanmaktadır. Organizmanın, elektromanyetik radyasyona (X-ışınları, gamma-ışınları) ve partiküllü radyasyona (elektronlar, protonlar, nötronlar, alfa ve beta partikülleri) maruz kalması sonucu primer radikaller açığa çıkar. Buna ilaveten fotokimyasal hava kirliliği, hiperoksia, sigara dumanı, bazı çözücüler, anestezikler ve genel olarak aromatik hidrokarbonlar gibi çok çeşitli çevresel ajanlar da serbest radikallerin meydana gelmesine yol açarlar.

Aktive olmuş makrofajlar, nötrofiller ve eozinofillerde fagositik solunumsal patlama sırasında da çeşitli serbest radikaller oluşur. Nötrofiller tarafından kullanılan antibakteriyel savunma mekanizması myeloperoksidaz (MPO) enzimidir. MPO, hidrojen peroksit (H_2O_2) varlığında klorür, iyodür ve bromürün oksidasyonunu katalizleyerek hipoklorik asit ($HOCl$), hipoyodik asit (HOI) ve hipobromik asit ($HOBr$) oluşturur. Fagositik lökositler opsonize mikroorganizmalar, $C5a$ kompleman fragmanı, lökotrien B_4 ,

bakteriyel orijinli N-formil oligopeptitler gibi partiküler ya da çözünebilir bir uyarıcıyla uyarıldıklarında lizozomal komponentleri dışarıya vermeye başlarlar ve reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumuyla birlikte mitokondri dışında oksijen tüketiminde bir patlama (solunumsal patlama) gösterirler. Fagosit edilmiş bakteri, solunumsal patlama ürünlerinin etkisiyle öldürülür. Ancak bu oksidan ürünler hücrelerin antioksidan savunma güçlerini aştığında normal konak hücrelere zarar verirler ve çeşitli hastalıkların patogenezinde rol oynarlar. HOCl, HOI ve HOBr ve bunların tuzları güçlü oksidanlardır, biyolojik olarak önemli moleküllerle reaksiyona girerek mikroorganizmayı etkileyen toksik ajanlar meydana getirirler. Fagositin kendisi de reaktif oksidanların zarar vermelerine karşı hassastır. Bununla birlikte kendilerini oksidanlarına karşı koruyabilirler. Fagositlerin antioksidan sistemleri, süperoksidi, H_2O_2 'ye dönüştüren süperoksit dismutaz (SOD), H_2O_2 'yi suya indirgeyen katalaz (CAT), H_2O_2 'yi detoksifiye edici glutatyon peroksidaz glutatyon redüktaz sistemi, antioksidan vitaminlerden c-tokoferol (vitamin E) ve askorbik asit (vitamin C) gibi antioksidanlardır. Nötrofillerden toksik ajanların sızıntısı veya sekresyonu, yakın hücrelere ve solubl sistemlere zarar verir. Fagosit kaynaklı oksidanlar ototoksik, immünosupresif ve mutajenik etkiler gösterirler.

Süperoksit radikalının vazoregülasyonda fizyolojik rolüne ilişkin düşünceler de vardır. Vasküler endotelyum tarafından sentezlenen "endothelium derived relaxing factor" (EDRF) vasodilatator yanıttan sorumludur ve nitrik oksitle eşdeğerdir. Nitrik oksit (NO) bir adet çiftlenmemiş elektrona sahiptir ve bu nedenle ROS olarak kabul edilebilir. Vasküler endotelyum aynı zamanda az miktarda süperoksit radikali sentez yeteneğine de sahiptir. Hem NO hem de süperoksit radikali ile reaksiyon sonucu oluşabilecek bazı yan ürünler sitotoksik olmasına karşın NO ve süperoksit radikali etkileşiminin vasküler tonüs düzenlenmesi üzerine yararlı etkilerinin olduğu bildirilmiştir (45,46,47).

1.12.2. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri:

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipidler üzerine yaptığı etkidir bu durum lipid peroksidasyonu olarak isimlendirilir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksi-

dasyon ürünleri oluştururlar. Lipid peroksidleri hücre zarlarının önemli bir komponentidir ve Fe, Cu gibi geçiş metallerinin varlığında alkoksi ve peroksi radikallerini verirler. Sonuçta hücre zarının akışkanlığını ve permeabilitesini azaltarak zar bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime neden olur. Biriken hidroperoksidler direkt olarak toksik etki göstermenin yanı sıra duyarlı aminoasit kalıntılarını (metionin, histin, sistein, lizin) okside eder veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler.

Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri:

Proteinler serbest radikallere karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Protein molekülleri üzerindeki sülfhidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde bazı yapısal değişiklikler meydana gelir. Bunlar özetle aminoasitlerin modifikasyonu, proteinlerin fragmentasyonu ve proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarıdır (48). Proteinin temel yapısındaki değişim, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete yol açabilir. Bu reaksiyonlar sonucu yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Enzimler de protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde de değişiklikler meydana gelir. Serbest radikallerin etkisiyle Ig G ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin O₂ veya H₂O₂ ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olur (49).

Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri:

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle oluşan ürünler çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksidler ve okzoaldehitler meydana gelirler. Oluşan bu ürünler diyabet, katarakt gibi hastalıkların patogeneğinde oldukça önemlidir. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanıp çapraz bağlar oluşturabilirler ve antimitotik etki gösterirler.

Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri

Serbest radikallerin, DNA atakları mutasyonlara ve hücre ölümüne yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. H₂O₂ ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür. DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlar oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. NO veya nitrojen dioksit (NO₂), peroksinitrit (ONOO⁻), dinitrojen trioksit (N₂O₃) ve nitrik asit (HNO₃) gibi reaktif ürünler, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler (50). Baz ve şeker radikallerinin reaksiyonları; değişik modifiye baz ve şekerler, kontrolsüz baz dizilimi, zincir kırılmaları ve DNA-protein çapraz bağlarını meydana getirirler.

1.12.3. Antioksidan Savunma Sistemleri:

Hücre ve dokular, radikal ürünleri ve reaksiyonlarını inhibe eden bir sisteme sahiptir. Serbest radikalleri ve bunların meydana getirdiği zararları önleyen maddeler antioksidanlar olarak adlandırılırlar bu olaya da antioksidan savunma denir. Antioksidan savunma radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre haraplanmasının onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması olarak beş değişik blokta yürür (51). Antioksidan savunma , “ enzimatik antioksidan savunma ” ve “nonenzimatik antioksidan savunma ” olarak iki sınıfta incelenebilir (Tablo 4-5). Bununla birlikte antioksidanlara daha spesifik rollerin yüklendiği çalışmalarda, antioksidan savunma; selüler, membransal ve ekstraselüler olarak sınıflandırılmaktadır.

Tablo 4. Başlıca Enzimatik Endojen Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD)	Süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$) ve H_2O_2 radikallerinin moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. ($2O_2 + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$)
Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	Hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Özellikle eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidan enzimdir. $H_2O_2 + 2GSH \longrightarrow GSSG + 2H_2O$
Glutasyon Redüktaz	GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan Okside Glutasyonu (GSSG) tekrar indirgenmiş Glutatyon (GSH) dönüşümünü kataliz eder.
Glutasyon S-Transferaz (GST)	Lipid peroksitlere karşı GSH-Px aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.
Katalaz (CAT)	Hidrojen peroksidi (H_2O_2) ve hidroksil (OH) radikallerinin oluşumunu önlemek için bunları suya ve oksijene parçalar.
Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz	Solunumun zincirinin son enzimi olup, Süperoksidi (O_2) detoksifiye eder.

Tablo 5. Başlıca Non-Enzimatik Antioksidanlar

Askorbik Asit	Hidroksil radikal giderici ve tokoferolü indirgeyici antioksidan vitamini.
Transferrin	Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu inhibe eder.
Haptoglobulin	Hemoglobin bağlayarak "hem" 'in salınmasını önler.
Albumin	$HOCl$ radikalini toplar , hem proteini ve bakır metal iyonlarını bağlar.
Serüloplazmin	Süperoksit radikalini nötralize eder , bakır iyonlarını bağlar.
Bilirubin	Önemli bir peroksil radikali toplayıcısıdır.
Ürik asit	Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken değişik radikalleri de toplar.

1.13. Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada ölçülebilir pek çok antioksidan bulunmaktadır. C ve E Vitamini, albumin, bilirubin, ürik asit gibi antioksidan moleküller ve SOD, CAT, GSH-Px gibi antioksidan enzimler hücreleri oksidan ajanların zararlı etkilerinden korumaktadır. Antioksidan moleküller de oksidanlar gibi tek tek ölçülebilmektedir. Ancak bu şekilde zaman kaybı ve maliyet açısından daha karmaşık metodlar gerektirmektedir. Son zamanlarda geliştirilen total antioksidan kapasite (TAK) metoduyla enzimatik ve non-enzimatik antioksidanların durumu tespit edilebilmektedir. TAK çeşitli reaktif oksijen ve nitrojen radikallerine karşı organizmanın antioksidan savunma etkisini bir bütün olarak gösterir (52,53). TAK ölçümü plazma ve vücut sıvılarında bulunan bütün antioksidanların kümülatif etkisini yansıtmaktadır. Ölçülebilen antioksidanların ayrı ayrı toplamından daha bütün bir değerdir. Bilinen ve bilinmeyen antioksidan kapasiteyi ve sinerjik etkileşimi ölçtüğünden dolayı invivo oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki hassas dengeyi kavramayı sağlar. Plazma TAK ölçümü insanlarda fizyolojik, çevresel ve beslenme faktörlerinin redoks durumunu değerlendirmeye yardım eder. Hücrelerin antioksidan kapasitesi, başlıca enzim sistemini yansıtırken plazma ise dietsel orjinli küçük molekül ağırlıklı antioksidanları yansıtır. Plazma TAK'ın tek seçilmiş antioksidan konsantrasyonuna göre invivo oksidasyon ürünleri ve antioksidanlar arasındaki dengeyi daha fazla temsil ettiği kabul edilmektedir (54).

1.14. Total Oksidatif Stres (TOS)

Oksidatif stres, ROS'un üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengeğin ROS üretimi lehine bozulmasıdır. Total oksidatif strese en büyük katkıyı endojen olarak vücutta sentezlenen serbest oksijen moleküllerinin yan ürünleri sağlamaktadır. Serbest oksijen radikalleri normal hücre metabolizması süresince devamlı olarak üretilmekte ve antioksidan savunma sistemi tarafından nötralize edilmektedir. Ancak ROS aşırı miktarda üretildiğinde veya antioksidan enzimlerde belirgin bir azalma olduğunda antioksidan savunma sistemi baskılanır ve oksidatif stres ortaya çıkar. Vücuttaki oksidatif stresi ve antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için oksidan ve antioksidan moleküllerin bireysel ölçümü yerine total olarak ölçümünü sağlayan yöntemler yaygınlaşmaktadır. Total oksidan stres (TOS) düzeyinin, total antioksidan kapasite (TAK) düzeyine

oranlanmasıyla oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplanmaktadır. OSİ vücudun oksidan antioksidan dengesinin yönünü belirtir.

1.15. Multipl Skleroz ve Oksidatif Stres

Oksidatif stresin MS patogeneğinde ve inflamatuvar olaylarda rol oynadığı bilinmektedir (55-58). Oksidatif stresi oluşturan ve esas olarak makrofajlarda üretilen ROS, MS ve EAE’de demiyelinizasyon ve akson hasarından sorumlu bulunmuştur (55,56). ROS, hücrelere oldukça toksik olan peroksinitrit gibi ürünlere dönüşerek lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi hücrenin ana komponentlerinde hasarlanmaya, sonuç olarak nekroz veya apoptoz yolu ile hücre ölümüne sebep olurlar. Ayrıca, MS’de azalmış hücrel antioksidan savunma sistemi bu hasarın artmasına katkıda bulunabilir (55-58). MS’de oksidatif streste artma (57-61) ve antioksidanlarda azalma (59-63) olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir. MS hastalarının kan, serum ve BOS örneklerinde oksidatif stres markerlarının seviyesi artmışken, antioksidan enzim ve küçük molekülü antioksidanların seviyesi azalmış olarak bulunmuştur (64). MS de aynı zamanda mitokondrial disfonksiyon gibi non-inflamatuvar mekanizmalarda nörodejenerasyona katkıda bulunabilir (65). Mitokondrial hasar tek başına ROS üretimini ve oksidatif hasarı artırabilmektedir. Serbest radikallerin aşırı salınımı, transendotelial lökosit migrasyonunu teşvik ederek oligodentrosit hasarına ve aksonal dejenerasyona yol açmaktadır (66-69). MS lezyonlarındaki ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS)’nin bazı kaynakları vardır. ROS belirgin olarak aktive makrofaj ve mikrogliyalardan salınmaktadır (70). RNS ise çeşitli hücre tiplerinde bulunan NO sentaz 1-3 enzim aktivitesine bağlı olarak ortaya çıkar (71). MS lezyonlarından salınan nitrik oksit türleri (NOS) ise özellikle aktif lezyonların kenarında bulunan makrofaj ve mikrogliya hücrelerini tekrar aktive eder. Bununla birlikte makrofaj ve mikrogliyalarda bulunan miyeloperoksidaz aktif demiyelinize beyaz cevher ve kortikal lezyonlarda aktif olarak bulunur (72-74). NADPH oksidaz (NOX) sisteminin üyeleri; özellikle NOX-2, makrofaj ve mikrogliyalardaki oksidatif patlamadan sorumludur. NOX aktivasyonu ve bunu takip eden ROS formasyonu, MS deki makrofaj ve mikrogliya aracılıklı nöronal ve oligodentrosit hasarının önemli bir patomekanizmasını oluşturur (75).

Yüksek ROS düzeyleri KBB‘nin bozulmasına, lökosit migrasyonuna ve miyelin fagositozu ile oligodentrogilial ve aksonal hasara aracılık edebilir (76).

Nuclear factor-E2-related factor (Nrf2) bir redox sensitif transkripsiyon faktörüdür. Nrf2 detoksifiye edici ve antioksidan enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonunu indüklemektedir (77). Son yapılan çalışmalar Nrf2/ARE transkripsiyon yolunun oksidatif strese karşı selüler defans mekanizmasında kritik bir rol oynadığını göstermiştir (78). Ayrıca yine yapılan son çalışmalarda Nrf2/ARE yolunun endotelial hücreler, beyin, karaciğer ve akciğerde immün ve inflamatuvar cevabı regüle ettiği gösterilmiştir (79-80). Nrf2/ARE yolunun aktivasyonu pro-inflamatuvar mediatörlerin üretimini azaltarak hücreyi inflamasyon aracılıklı hücre hasarından korumakta iken bu yolun sekteye uğraması oksidatif stres ve inflamatuvar hasarın artmasına yol açar (81). Yapılan bir çalışmada Nrf2/ARE yolunun devre dışı kalmasının farelerde EAE’yi IFN- γ ve IL-17 üretimini artırarak kötüleştirdiği gösterilmiştir (82).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alındıktan sonra başlandı. Çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda RR-MS tanısı ile izlenen ve ilk kez fingolimod tedavisi başlanan 25 hasta ile 40 sağlıklı kontrol grubu alındı. Çalışmaya alınan olgulara bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı. Hastalardan fingolimod tedavisi başlanmadan önce ve 0,5 mg/gün dozunda oral fingolimod tedavisi başlandıktan 3 ay sonra antekübital venden venöz kan örnekleri alındı. Kan örnekleri için düz biyokimya tüpü kullanıldı. Alınan kanlar yarımsaat bekletilip 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Alınan serum örnekleri analizler yapılncaya kadar Eppendorf tüplerine konularak TOS ve TAK parametreleri çalışılmak üzere -80°C'de derin dondurucuda saklandı.

2.1. Çalışmaya Alınma Kriterleri:

- 1-18 yaşından büyük RR-MS hastası olmak
- 2-Mc Donald 2010 tanı kriterlerine göre RR-MS tanısı almış olmak
- 3-İlk kez Fingolimod tedavisi başlanmış olmak

2.2. Çalışmaya Alınmama Kriterleri:

- 1-MS atak döneminde bulunmak
- 2- Sigara kullanılması
- 3- Son 3 ay içerisinde antiinflamatuvar, hormon, steroid, immunsupresif, immun modülatör tedavi almış olmak
- 4-Vitamin preparatları kullanıyor olmak
- 5-Akut enfeksiyon olması
- 6-Kronik karaciğer hastalığı, kronik böbrek yetmezliği olması

2.3. Biyokimyasal Analiz

Total oksidatif stres aktivitesi hazır ticari TOS Assay Kit (Rel Assay Diagnostics ,Türkiye) kullanılarak yapıldı. Testin ilkesi numunedeki mevcut oksidanların ferröz iyon şelatör kompleksini ferrik iyon okside etmesine dayanır. Ferrik iyon asidik ortamda kromojen ile renkli kompleks oluşturur. Renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülür. Yoğunluk örnekteki oksidan madde yoğunluğunu yansıtır. Tetkik H₂O₂ ile kalibre edilir ve birimi litre başına mikromolar H₂O₂ olarak ifade edilir (mcmol H₂O₂ Equiv/L).

Total Antioksidan kapasite aktivitesi Hazır ticari TAS Assay Kit (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Testin ilkesi, örnekteki antioksidanların koyu mavi- yeşil renkli ABTS radikal solüsyonu renginde azalma oluşturmalarıdır. Absorbans 660 nm’de ölçülür. Absorbanstaki değişiklik numunedeki TAS ile ilişkilidir. Birimi mikromol/litre olarak tanımlanmıştır.

2.4. Serum TOS Aktivitesi Tayini

Stabilize standart stok çözeltisi, 40.000 kez deiyonize su ile seyreltilerek günlük çalışma solüsyonu hazırlandı. Hücreye 500 mikrolitre (mcl) reaktif 1 ve 75 mcl örnek konularak ilk absorbans noktası için 530 nm dalga boyunda okutuldu. Daha sonra hücreye 25 mcl reaktif 2 eklenerek 10 dk. Oda ısısında inkübe edildikten sonra 530 nm dalga boyunda 2. absorbans noktası okutuldu. Sonuçların hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanıldı.

Sonuçların hesaplanması:

Serum TOS Aktivitesi= (Δ Abs Örnek / Δ Abs standart2) X 20 (Standart2 hacmi)

Δ Örnek absorbans: (Örneğin 2. absorbans değeri - Örneğin 1. absorbans değeri)

Δ Standart 2 absorbans: (Std2’nin 2. absorbans değeri- Std2’nin 1.absorbans değeri)

Standart2 hacmi: 20 mcmol H₂O₂ Equiv./L

2.5. Serum TAK Aktivitesi Tayini

Hücreye 500 µl reaktif 1 konuldu ve 30 µl örnek eklendi.

İlk absorbans noktası için 660 nm dalga boyunda okutuldu. Daha sonra hücreye 75 µl reaktif 2 konularak oda sıcaklığında 10 dk. İnkübe edildi ve 660 nm dalga boyunda 2. kez okutuldu.

Sonuçların Hesaplanması:

$$\text{Serum TAK aktivitesi: } \frac{(\Delta \text{Abs Std1} - \Delta \text{Abs Örnek})}{(\Delta \text{Abs Std1} - \Delta \text{Abs Std2})}$$

Δ Örnek absorbans: (Örneğin 2. absorbans değeri - Örneğin 1. absorbans değeri)

Δ Standart 2 absorbans: (Std2'nin 2. absorbans değeri - Std2'nin 1. absorbans değeri)

Δ Standart 1 absorbans: (Std1'in 2. absorbans değeri - Std1'in 1. absorbans değeri)

2.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizer SPSS (Statistical Package for Social Sciences) Windows 20.0 paket programı kullanılarak yapıldı. 0.ay ve 3.ay TOS VE TAK ortalamalarının karşılaştırılmasında bağımlı gruplarda t-Testi (*Paired Samples Test*) , 0.ay TAS ve TOS ortalamalarının kontrol grubu ile karşılaştırılmasında bağımsız gruplarda t-Testi (*Independent Samples Test*) kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak alındı.

3. BULGULAR

Çalışmaya alınan 25 RR-MS hastasının 14'ü (%56) kadın, 11'i (%44) erkekti. Hastaların yaş ortalaması $33,18 \pm 10,12$ idi. Kontrol grubundaki 40 kişinin 25 'i (%62,5) kadın, 15 'i (%37,5) erkekti. Kontrol grubunun yaş ortalaması $31,44 \pm 7,15$ idi. Her iki grubun cinsiyet ve yaş özellikleri Tablo 6' da gösterildi. Yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Hastaların ortalama expanded disability status scale (EDSS) skorları $4,2 \pm 0,25$ 'idi. Tedavi sonrası EDSS skoru $4,11 \pm 0,21$ 'di. Tedaviden sonra EDSS skorlarında anlamlı değişiklik yoktu.

Tablo 6. Vaka ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyet Özellikleri

Özellikler		Hasta Grubu	Kontrol Grubu
Yaş ortalaması		$33,18 \pm 10,12$	$31,44 \pm 7,15$
Cinsiyet	Erkek	11	15
	Kadın	14	25

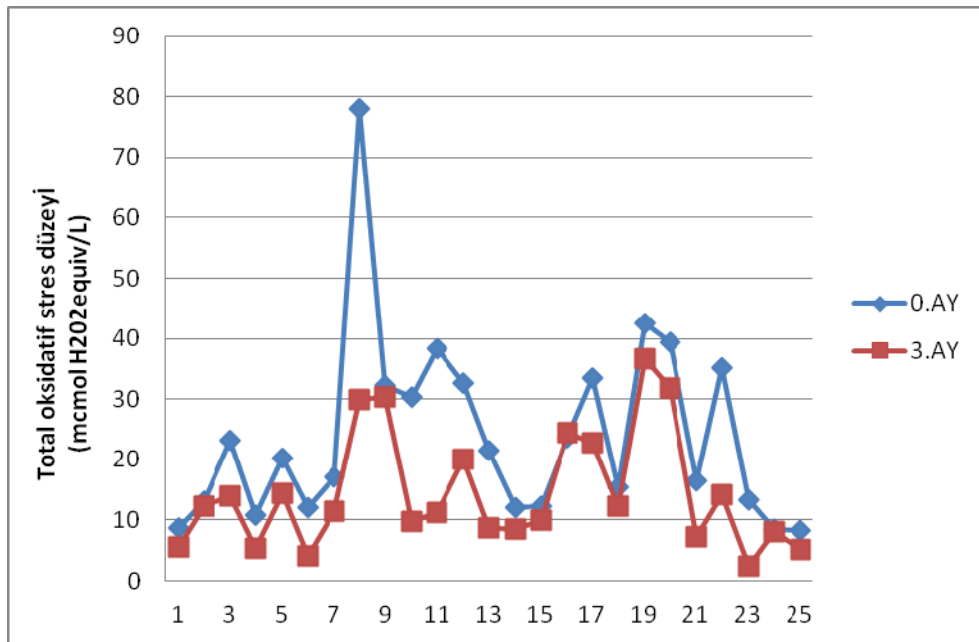
MS hastalarında fingolimod tedavisi başlanmadan önce alınan serum TOS düzeyleri ile kontrol grubu serum TOS düzeyleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptandı. MS hastalarında tedavi öncesi ortalama TOS düzeyi $23,99 \pm 15,60$ mcmol H₂O₂ Equiv/L olarak saptanırken, kontrol grubunda ortalama TOS düzeyi $7,38 \pm 3,22$ mcmol H₂O₂ Equiv/L olarak saptandı. MS hastalarında fingolimod tedavisi başlanmadan önceki TOS düzeyi ile kontrol grubunun TOS düzeyi karşılaştırıldığında MS hastalarında TOS düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Tablo 7. MS Hastalarında Tedavi Öncesi ve Kontrol Grubu Ortalama TOS Düzeyleri

Gruplar	n	Ortalama TOS düzeyi (mcmol H ₂ O ₂ Equiv/L)	p, t
Kontrol Grubu	40	7,38 ± 3.22	t:5,25 p<0,0001
Hasta Grubu (Tedavi Öncesi)	25	23,99 ± 15,60	

(Independent Samples Test, p<0,05)

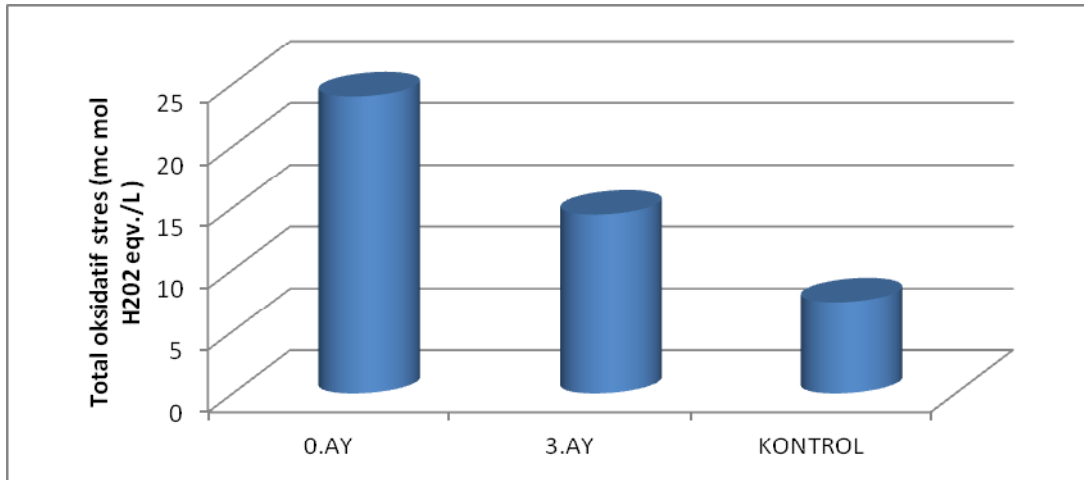
MS hastalarında tedavi öncesi ortalama serum TOS düzeyi $23,99 \pm 15,60$ mcmol H₂O₂ Equiv/L iken fingolimod tedavisinin 3. ayı sonunda serum ortalama TOS düzeyi $14,43 \pm 9,61$ mcmol H₂O₂ Equiv/L olarak bulundu. MS hastalarında fingolimod tedavisinin 3.ayı sonunda serum TOS düzeylerinin, fingolimod başlanmadan önceki serum TOS düzeylerine göre anlamlı ölçüde düşüş gösterdiği izlendi (p<0,05).

**Şekil 1.** MS Hastalarında Tedavi Öncesi ve 3.Aylarda TOS Düzeyleri

Tablo 8. MS Hastalarında Fingolimod Tedavisi Başlanmadan Önce ve Fingolimod Tedavisinin 3.Ayı Sonunda Ortalama TOS Düzeyleri

Gruplar	n	Ortalama Tos Düzeyi (mcmol H ₂ O ₂ Equiv/L)	p , t
Tedavi Öncesi	25	23,99 ± 15,60	t:4,53 p<0,0001
Tedavinin 3.ayı	25	14,43± 9,61	

(Paired Samples Test , p<0,05)



Şekil 2. Dönemler Arasında Ortalama TOS Düzeylerindeki Değişim

MS hastalarında fingolimod tedavisi başlanmadan önceki serum TAK düzeyleri ile kontrol grubu serum TAK düzeyleri karşılaştırıldı. MS hastalarında tedavi öncesi ortalama TAK düzeyi $1,03 \pm 0,28$ mcmol /L olarak saptanırken, kontrol grubunda ortalama TAK düzeyi $1,03 \pm 0,21$ mcmol /L olarak saptandı. MS hastalarında fingolimod tedavisi başlanmadan önceki TAK düzeyi ile kontrol grubunun TAK düzeyi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Tablo 9. Kontrol grubunda ve Fingolimod Tedavisinden Önce MS Hastalarında Ortalama TAK Düzeyleri

Gruplar	n	Ortalama TAK Düzeyi (mcmol /L)	p , t
Kontrol Grubu	40	1,03 ± 0,21	t:0,342 p:0,734
Hasta Grubu (Tedavi Öncesi)	25	1,03 ± 0.28	

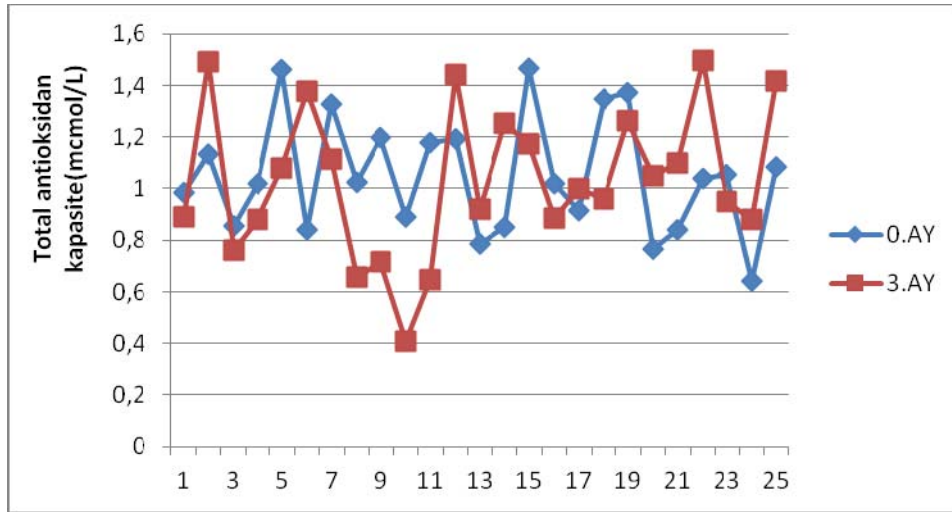
(Independent Samples Test, $p>0,05$)

MS hastalarında fingolimod tedavisi başlanmadan önceki serum TAK düzeyleri ile fingolimod tedavisinin 3.ayı sonundaki serum TAK düzeyleri karşılaştırıldı. MS hastalarında tedavi öncesi ortalama serum TAK düzeyi $1,03 \pm 0.28$ mcmol/L iken fingolimod tedavisinin 3. ayı sonunda serum ortalama TAK düzeyi $1,05 \pm 0.22$ mcmol /L olarak bulundu. MS hastalarında fingolimod tedavisinin 3.ayı sonunda serum TAK düzeylerinde, fingolimod başlanmadan önceki serum TAK düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

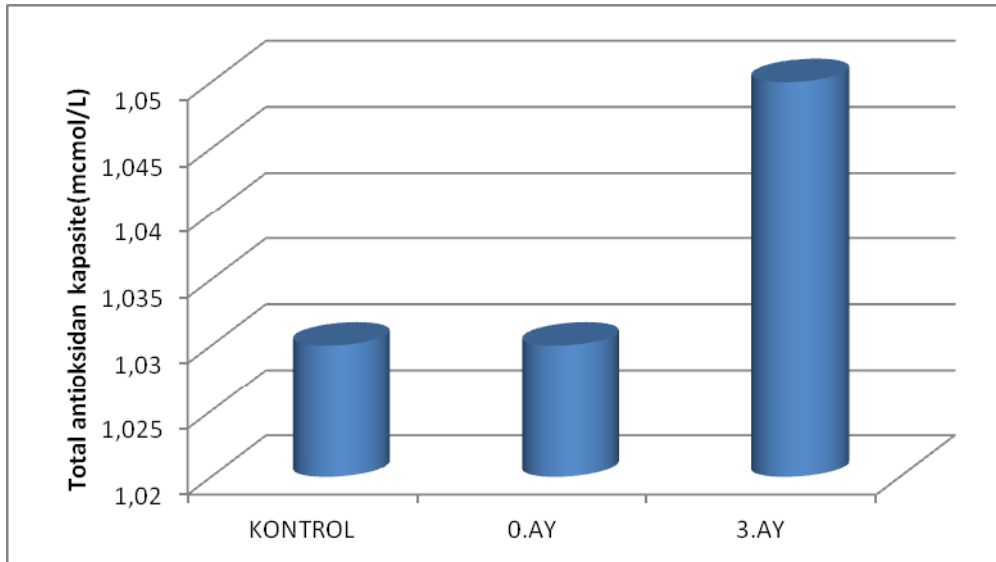
Tablo 10. MS hastalarında Tedavi Öncesi ve 3.Aylarda Ortalama TAK Düzeyleri

	n	Ortalama TAK Düzeyi(mcmol/L)	p , t
Tedavinin 3.ayı	25	1,05 ± 0.22	t:0,29 p:0,77
Tedavi öncesi	25	1,03 ± 0.28	

(Paired Samples Test , $p> 0,05$)



Şekil 3. MS Hastalarında Tedavi Öncesi ve 3.Aylarda TAK Düzeyleri



Şekil 4. Dönemler Arasında Ortalama TAK Düzeylerindeki Değişim

4. TARTIŞMA

MS çoğunlukla genç yetişkinlikte başlayan MSS'nin birçok bölgesinde inflamasyon, demiyelinizasyon ve akson hasarı ile karakterize kronik bir hastalıktır. MSS'nin inflamatuvar demiyelizan hastalıklarının prototipidir ve en sık görülen formudur.

ROS, son yörüngelerinde ortaklanmamış bir elektron taşıyan ve oldukça reaktif olan moleküllerdir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikal grubu, oksijen metabolitleri tarafından oluşturulur. ROS, insan vücudunda sürekli oluşur. Bunların çoğu yararlı fizyolojik görevleri yerine getirir. Fakat bunların üretimi ve tüketimi arasındaki dengenin bozulmasıyla ROS, lipid, protein, nükleik asit ve karbonhidratlar gibi biyomoleküllere zarar vererek birçok hastalığın patogeneğinde önemli rol oynarlar. Hücre ve dokular, radikal ürünleri ve reaksiyonlarını inhibe eden bir sisteme sahiptir. Serbest radikalleri ve bunların meydana getirdiği zararları önleyen maddeler antioksidanlar olarak adlandırılırlar bu olaya da antioksidan savunma denir. Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunma sistemi ile serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir.

Biz çalışmamızda MS tedavisinde yeni bir ajan olarak kullanıma giren fingolimodun, MS hastalarında oksidatif stres ve antioksidanlar üzerindeki etkisini inceledik. MS hastalığında çeşitli tedavi yöntemlerinin oksidatif stres ve antioksidanlar üzerindeki etkilerini inceleyen bir takım çalışmalar yapılmış olmasına rağmen elde edilen sonuçlar çelişkilidir.

Seven ve arkadaşlarının (ark.) yaptıkları çalışmada 20 RR-MS hastasından akut MS atağının ilk 7 günü içerisinde, MP tedavisinden önce ve 1000mg/gün dozunda 5 gün MP tedavisi verildikten 3 gün sonra serum örnekleri alınarak hastalar 15 kişilik sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmış. Serum örneklerinde oksidatif stres markerları olarak thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), 8-epi-PGF2 α , conjugated diene ve nitrosative stres markerları olarak nitrotyrosine ve nitrit-nitrate çalışılmış. Serum conjugated diene ve 8-epi-PGF2 α düzeyleri MP tedavisi başlanmadan önce RR-MS hastala-

rında anlamlı ölçüde yüksek bulunmuş, MP tedavisi sonrası sadece 8-epi-PGF2 α düzeyinde anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Serum TBARS düzeyleri tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir değişim göstermemiştir. Serum nitrotyrosine düzeyleri RR-MS hastalarında hem MP tedavisinden önce hemde MP tedavisinden sonra kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur. Fakat MP tedavisinden önce ve sonrakı nitrotyrosine düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Serum nitrite-nitrate düzeyleri MP tedavisinden önce kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur. Bu bulgular RR-MS hastalarında oksidatif stresin artmış olduğunu ve MP tedavisinin oksidatif stresi giderici faydalı rolünün bulunduğunu ortaya koymuştur (83).

Constantinescu ve ark. yaptıkları çalışmada 10 MS hastasında GA tedavisinin 6. ve 12. aylarında serum ürik asit seviyeleri değerlendirilmiş. Ortalama serum ürik asit seviyeleri GA tedavisinin 6. ayında başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiş. Tedavinin 12. ayında serum ürik asit düzeyleri başlangıca göre yüksek olarak saptanırken 6. ve 12. aylar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış. Serbest radikallerin doğal bir inhibitörü olan ürik asit seviyelerinin artmış olması GA'nın MS'teki etki mekanizmasını temsil edebileceği ve artmış ürik asit seviyesinin GA tedavisine yanıtta bir indikatör olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir (84).

Sanoobar ve ark. yaptıkları çalışmada 24 RR-MS hastasında koenzim Q10 tedavisinin oksidatif stress ve antioksidan enzimler üzerine olan etkisi incelenmiştir. Çalışmada 12 hafta sonunda koenzim Q10 alan RR-MS grubunda kontrol grubuna göre SOD aktivitesi artarken, MDA düzeyleri ise anlamlı ölçüde azalmış, GSH-Px aktivitesinde ise anlamlı bir değişim saptanmamıştır. TAK üzerine koenzim Q10 desteğinin önemli etkisine rağmen, anlamlı bir farklılık iki grup arasında bulunamamıştır. Çalışmada günlük 500 mg koenzim Q10 desteğinin RR-MS hastalarında oksidatif stresi azaltıp antioksidan enzim aktivitesini artırabileceği sonucuna varılmıştır (85).

Miller ve ark. yaptıkları çalışmada SP-MS hastalarında potent bir nöroprotektan olan melatonin oksidatif stres ve antioksidan enzimler üzerine olan etkisi incelenmiştir. Çalışmada 16 SP-MS hastasına ve 13 sağlıklı kontrol grubuna 30 gün boyunca 10mg/gün dozunda melatonin tedavisi verilmiştir. SP-MS hastalarında ve kontrol grubunda bir lipid peroksidasyon ürünü olan MDA ile antioksidan enzimler olan SOD,

CAT ve GSH-Px aktiviteleri çalışılmıştır. Melatonin verilen hastalarda 30 gün sonunda SOD ve GSH-Px aktiviteleri istatistiksel olarak artmış olarak bulunurken MDA düzeylerinde ise anlamlı ölçüde düşüş görülmüş. Spearman analizi ile SOD düzeyleri ile EDSS skoru arasında melatonin tedavisi öncesinde ve sonrasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda özellikle SP-MS hastalarında melatonin desteğinin dikkate alınması gerektiği vurgulanmıştır (86).

Biz RR-MS'li hastalarda TOS düzeylerini fingolimod tedavisi öncesi kontrol grubuna göre yüksek olarak bulduk. Fingolimod tedavisi sonrası RR-MS hastalarında TOS düzeyinde anlamlı düşüş saptadık. Bu çalışmamızda diğer antioksidan olarak verilen ilaçlarla uyumlu olarak fingolimodun oksidatif stresi azalttığını gösterdik.

Tasset ve ark. yaptıkları çalışmada 22 RR-MS hastasında natalizumab tedavisinin oksidatif hasar biomarkerları üzerine olan etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışmada 22 RR-MS hastasından ilk natalizumab dozu verilmeden hemen önce ve natalizumab tedavisinin 14. ayında serum ve plazma örnekleri alınarak TAK, Carbonylated protein, 8-hidroksi-2'-deoksiguanosine(8-ohdg), total glutatyon, redukte glutatyon (GSH), SOD, GSH-Px ve MPO düzeyleri ölçülmüştür. Çalışma sonunda carbonylated protein ve 8-ohdg düzeylerinde anlamlı bir düşüş saptanırken; TAK, total glutatyon, GSH, SOD, GSH-Px aktivitelerinde anlamlı bir değişiklik izlenmemiştir. Ayrıca natalizumab tedavisi sonunda hastalarda MPO ve MPO/nötrofil granülosit oranında anlamlı düzeyde düşüş izlenmiştir. Bu bulgular ile natalizumab tedavisinin oksidatif hasar üzerinde faydalı etkilerinin bulunduğu sonucuna varılmıştır (87).

Kırbaş ve ark. yaptıkları çalışmada 30 yeni tanı almış ve henüz tedavi başlanmamış RR-MS hastasında; TOS, TAK, arilesteraz ve paraoksonaz düzeyleri, 30 kişiden oluşan sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada RR-MS hastalarının TAK düzeyleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşük bulunmuştur. RR-MS hastalarının TOS seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek olarak bulunmuş. Paraoksonaz ve arilesteraz düzeylerinde ise RR-MS hastaları ile kontrol grubu arasında önemli bir fark saptanmamıştır. Çalışma sonucunda RR-MS hastalarında TAK düzeyinin belirgin ölçüde düşük bulunduğu, bu durumun sebebi tam olarak bilinmemekle birlikte RR-MS hastalarında artmış TOS düzeyinin endojen antioksidanları tüketmiş olabi-

leceğine bağlanmış ve hastalara ek antioksidan tedavi verilmesinin MS hastalarında faydalı olabileceği belirtilmiştir (88).

Biz RR-MS hastalarında TOS düzeyini kontrol grubuna göre yüksek olarak bulduk, TAK düzeylerinde anlamlı fark saptamadık. Bu sonuç Kırbaş ve ark. yaptıkları çalışmayı TOS düzeyleri açısından desteklemekte, TAK düzeyleri açısından desteklemekteydi. Çalışmamızda antioksidan seviyeyi etkileyebilecek risk faktörleri olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi bu durum farklı sonuçlara sebep olabilir. Ayrıca hasta sayısının her iki çalışmada da düşük olmasından dolayı sonuçlar farklı bulunmuş olabilir, bu konuda daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Oliveira ve ark. yaptıkları çalışmada 96 RR-MS hastası ve 196 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunda oksidatif stres ve EDSS skoru arasında bir korelasyon olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada oksidatif stres düzeyi tert-butyl hydroperoxide-initiated chemiluminescence (CL-LOOH), karbonil protein, nitrik oksit metabolitleri (NOx), total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP), proteinlerin sülfidril grupları ve serum ürik asit ile ölçülmüştür. Çalışmada RR-MS hastalarında CL-LOOH ve karbonil protein plazma seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek; NOx, TRAP ve sülfidril grupları plazma seviyeleri ise anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Bu çok değişkenli analiz oksidatif belirteçler ve MS varlığı arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Çalışmada CL-LOOH ve karbonil protein ile EDSS skoru arasında pozitif bir korelasyon saptanmış oksidatif stresin MS progresyonunun fizyopatolojinde önemli bir role sahip olduğu ifade edilmiştir (89).

Çalışmamızda fingolimod RR-MS hastalarında oksidatif stresi düşürmesine rağmen tedavi öncesinde ve sonrasında EDSS skorlarında değişiklik izlenmedi. Fingolimod tedavisinin çalışmamızda 3 ay gibi kısa bir süre verilmesinden dolayı EDSS skorlarında değişiklik yapmamış olabilir. Bu konuda daha uzun soluklu çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda, fingolimod tedavisinin RR-MS hastalarında oksidatif stres ve antioksidan kapasite üzerindeki etkilerini inceledik. Yapılan çalışmaların birçoğunda MS hastalarında antioksidanların seviyesi düşük olarak saptanmıştır. Bu durumun sebebi ise tam olarak bilinmemekle birlikte bazı araştırmacılar tarafından artmış oksidatif stresin antioksidanları tüketmiş olabileceğine bağlanmıştır. Bizim çalışmamızda ise fingolimod tedavisi başlanmadan önce RR-MS hastaları ile kontrol grubu arasındaki TAK düzeyleri arasında fark saptanmadı. 0,5 mg/gün dozunda oral fingolimod tedavisinin 3. ayı sonunda yapılan TAK değerlendirmesinde tedavi öncesine göre hafif bir yükselme izlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik izlenmedi.

RR-MS hastalarına 0,5 mg/gün dozunda oral fingolimod tedavisi başlandıktan 3 ay sonra bakılan TOS düzeylerinin tedaviden önceki TOS düzeylerine göre anlamlı ölçüde düşüş gösterdiği saptandı. Oksidatif stresin MS progresyonunun fizyopatolojinde önemli bir role sahip olduğu göz önüne alındığında fingolimodun oksidatif stresi azaltıcı etkisi önemlilik arz etmektedir. Bu durum fingolimodun RR-MS hastalarında oksidatif stresi düşürdüğünü gösteren ilk çalışma olması sebebiyle önemlidir. Fingolimodun oksidatif stress üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha uzun soluklu prospektif kohort çalışmalarına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Alonso A, Hernán MA. Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis: a systematic review. *Neurology* 2008; 71:129.
2. Koch-Henriksen N, Sørensen PS. The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *Lancet Neurol* 2010; 9:520.
3. Kotzamani D, Panou T, Mastorodemos V. Rising incidence of multiple sclerosis in females associated with urbanization. *Neurology* 2012; 78:1728.
4. Ebers GC. Environmental factors and multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2008; 7:268.
5. Simpson S Jr, Blizzard L, Otahal P, et al. Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: a meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011; 82:1132.
6. Oksenberg JR, Barcellos LF. The complex genetic aetiology of multiple sclerosis *J Neuro Virol* 2000; 6 (Suppl 2): 10-14.
7. Kurtzke JF. Epidemiology of multiple sclerosis including special reference to developing countries *Eur J Neurol* 1998; 5 (Suppl): 5-6.
8. Milonas I, Tsunis STL, Logothetis I. Epidemiology of multiple sclerosis in northern Greece. *Acta Neurol Scand* 1990; 81: 43-47.
9. Türk Ü, Alp R, Sur H. Prevalence of Multiple Sclerosis Door-to Door Survey in Maltepe Istanbul, Turkey. *Neuroepidemiology* 2006;27:17-21.)
10. Bradley W.G.,Daroff R.B.,Fenichel G.M.,Jankovic J. *Neurology in Clinical Practice* Çeviri:Tan E.,Özdamar S.E. Klinik Pratikte Nöroloji İstanbul: Veri Medikal Yayıncılık;2008:1590).
11. Tunalı G. Epidemiyoloji. Türkiye Klinikleri Nöroloji Multipl Skleroz Özel Sayısı 2004; 2:161-5
12. Compston DAS. Genetic epidemiology. In:Compston DAS, Ebers G, Lassmann H, McDonald I, Matthews B, Wekerle H (eds), *MAlpine's Multiple Sclerosis*. Churc-

- hil Livingstone, London, Edinburgh, New York, Philadelphia, Sydney, Toronto 1998, 45-142.
13. Casetta I, Granieri E. Clinical infections and multiple sclerosis: contribution from analytical epidemiology. *J Neuro Virol* 2000; 6 (Suppl 2) 147-151.
 14. Riise T, Nortvedt MW, Ascherio A. Smoking is a risk factor for multiple sclerosis. *Neurology* 2003; 61:1122.
 15. Hernán MA, Jick SS, Logroscino G. Cigarette smoking and the progression of multiple sclerosis. *Brain* 2005; 128:1461.
 16. Dobson R, Giovannoni G, Ramagopalan S. The month of birth effect in multiple sclerosis: systematic review, meta-analysis and effect of latitude. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013; 84:427.
 17. Mowry EM, Waubant E, McCulloch CE, et al. Vitamin D status predicts new brain magnetic resonance imaging activity in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2012; 72:234.
 18. Salzer J, Hallmans G, Nyström M. Vitamin D as a protective factor in multiple sclerosis. *Neurology* 2012; 79:2140.
 19. Van der Mei IA, Ponsonby AL, Dwyer T. Past exposure to sun, skin phenotype, and risk of multiple sclerosis: case-control study. 2003; 327:316.
 20. Markus Kleinewietfeld, Arndt Manzel, Jens Titze. Sodium chloride drives autoimmune disease by the induction of pathogenic T_H17 cells. *Nature* 2013 doi:10.1038/nature11868
 21. Nielsen NM, Westergaard T, Frisch M. Type 1 diabetes and multiple sclerosis: A Danish population-based cohort study. *Arch Neurol* 2006; 63:1001.
 22. Gupta G, Gelfand JM, Lewis JD. Increased risk for demyelinating diseases in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2005; 129:819.
 23. Lincoln MR, Montpetit A, Cader MZ. A predominant role for the HLA class II region in the association of the MHC region with multiple sclerosis. *Nat Genet* 2005; 37:1108.

24. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Hafler DA, Compston A. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *N Engl J Med* 2007; 357:851.
25. Lundmark F, Duvefelt K, Iacobaeus E. Variation in interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) influences risk of multiple sclerosis. *Nat Genet* 2007; 39:1108.
26. Sadovnick AD, Armstrong H, Rice GP. A population-based study of multiple sclerosis in twins: update. *Ann Neurol* 1993; 33:281.
27. Nielsen NM, Westergaard T, Rostgaard K. Familial risk of multiple sclerosis: a nationwide cohort study. *Am J Epidemiol* 2005; 162:774.
28. Campbell JJ, Hedrick J, Zlotnik A. Chemokines and the arrest of lymphocytes rolling under flow conditions. *Science* 1998; 229:381-384.
29. Yong VW, Power C, Forsyth P. Metalloproteinases in biology and pathology of the nervous system. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2:502-511.
30. Pette M, Fujita K, Kitze B. Myelin basic protein-specific T lymphocyte lines from MS patients and healthy individuals. *Neurology* 1990; 40: 1770-1776.
31. M. Saresella, I. Marventano, F. Rosa Guerini, M. Zanzottera, S. Delbue. Myelin Basic protein-specific T Lymphocytes proliferation and programmed Cell Death in Demyelinating Disease. *Clin. Immunol.* 2008.12 : 509-517.
32. Meinl E, Krumbholz M, Hohlfeld R. B lineage cells in the inflammatory central nervous system environment: migration, maintenance, local antibody production, and therapeutic modulation. *Ann Neurol* 2006;59:880-92.
33. Haas, J., Hug, A., Veihover, A., et al. Reduced suppressive effect of CD4+CD25 high regulatory T cells on the T cell immune response against myelin oligodendrocyte glycoprotein in patients with multiple sclerosis. *Eur. J. Immunol.*, 2005;35:3343-3352.
34. V. W. Yong, F. Giuliani, M. Xue, A. Bar-Or, L. M. Metz. Experimental models of neuroprotection relevant to Multiple Sclerosis. *Neurology* 2007;68 S32-37.
35. Dusanka S. Skundric, R. Dai, Vaagn L. Zakarian, Weili Zhou. Autoimmuneinduced preferential depletion of myelin-associated glycoprotein (MAG) is genetically regulated in relapsing EAE (B6 x SJL) FI mice. *Molecular Neurodegeneration* 2008;3:7.

36. Humm AM, Beer S, Kool J. Quantification of Uhthoff's phenomenon in multiple sclerosis: a magnetic stimulation study. *Clin Neurophysiol* 2004; 115:2493.
37. Netter Frank H, The Netter Collection of Medical Illustrations Çeviri Ed.:Emre M. Merkezi Sinir Sisteminin Demyelinizan Hastalıkları.İstanbul:.Güneş Tıp Kitabevi;2007:174-75).
38. Hu W, Lucchinetti CF. The pathological spectrum of CNS inflammatory demyelinating diseases. *Semin Immunopathol.* 2009 ;112:391.
39. Miller A,Bourdette D. Chen J . Multiple sclerosis. *Continuum* 1999 ; 5:7-85.
40. Karataş M, The Differential Diagnosis of Multiple Sclerosisj *Journal of Neurological Sciences (Turkish)*, 2008; 25:171-184.
41. Polman S. , Chris D. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Annals of Neurology* 2011; 69: 292–302.
42. Schwab SR, Cyster JG. Finding a way out: lymphocyte egress from lymphoid organs. *Nat Immunol* 2007; 8:1295-1301.
43. Massberg S, von Andrian UH. Fingolimod and sphingosine-1-phosphate modifiers of lymphocyte migration. *N Engl J Med* 2006; 355:1088-1091.
44. Mehling M, Johnson TA, Antel J . Clinical immunology of the sphingosine 1-phosphate receptor modulator fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis. *Neurology* 2011; 76:20-27.
45. Saran M, Michel C, Bors W. Reaction of NO with superoxide. *Free Radic Res* 1990; 10: 221 - 226.
46. Lowenstein C, Dinerman J, Snyder S. Nitric Oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227- 237.
47. Grozdanovic Z, Briining G, Baumgarten H. Nitric Oxide: A novel autonomic neurotransmitter. *Acta Anat* 1994; 150: 16-24.
48. Ripine JE, Bast A, Lankharst. Lipids and The Oxidative Stres Study Group : Oxidative stres in chronic obstructive pulmonary disease. *J Respir Crit Care Med.* 1997; 156: 341-347.

49. Mccord JM. Human disease, free radicals and the oxidant / antioxidant balance. Clin Biochem. 1993; 26: 351-357.
50. Dizdaroglu M. DNA and Free Radicals. Ellis Horwood, Chichester 1993; 19-39.
51. Gutteridge J.M. Lipid Peroxidation And Antioxidants As Biomarkers Of Tissue Damage. Clin. Chem 1995; 41:1819-1828.
52. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clinical Biochemistry. 2004;37:277-285.
53. Işık A, Selek Ş. Total Antioxidant Response and Oxidative Stress in Patients with Rheumatoid Arthritis. F. Ü. Sağ. Bil. Derg. 2007;21:67-73.
54. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. Free Radic Biol Med 2000; 29: 1106–1114.
55. Gonsette RE. Neurodegeneration in multiple sclerosis: The role of oxidative stress and excitotoxicity. J Neurol Sci 2008;274:48-53.
56. Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis: the need for effective antioxidant therapy. J Neurol 2004;251:261-268.
57. Ortiz GG, Macías-Islas MA, Pacheco-Moisés FP, et al. Oxidative stress is increased in serum from Mexican patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. Dis Markers 2009;26:35-39
58. Koch M, Mostert J, Arutjunyan AV, et al. Plasma lipid peroxidation and progression of disability in multiple sclerosis. Eur J Neurol 2007;14:529- 533.
59. Besler HT, Comoğlu S, Okçu Z. Serum levels of antioxidant vitamins and lipid peroxidation in multiple sclerosis. Nutr Neurosci 2002;5:215-220.
60. Besler HT, Comoğlu S. Lipoprotein oxidation, plasma total antioxidant capacity and homocysteine level in patients with multiple sclerosis. Nutr Neurosci 2003;6:189-196.

61. Koch M, Ramsaransing GS, Arutjunyan AV, et al. Oxidative stress in serum and peripheral blood leukocytes in patients with different disease courses of multiple sclerosis. *J Neurol* 2006;253:483-487.
62. Syburra C, Passi S. Oxidative stress in patients with multiple sclerosis. *Ukr Biokhim Zh* 1999;71:112-115.
63. Koch M, Mostert J, Arutjunyan AV, et al. Plasma lipid peroxidation and progression of disability in multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2007;14:529-533.
64. Sayre LM, Perry G, Smith MA. Oxidative stress and neurotoxicity. *Chem Res Toxicol* 2008;21:172-188.
65. Witte M.E.; Bo L.; Rodenburg R.J., *et al.* Enhanced number and activity of mitochondria in multiple sclerosis lesions. *J. Pathol.* 2009, 219, 193–204.
66. Hendriks, J.J.A.; Alblas, J.; van der Pol, S.M.A.; van Tol, E.A.F.; Dijkstra, C.D.; de Vries, H.E. Flavonoids influence monocytic GTPase activity and are protective in experimental allergic encephalitis. *J. Exp. Med.* 2004;200:1667–1672.
67. Smith, K.J.; Kapoor, R.; Felts, P.A. Demyelination: The role of reactive oxygen and nitrogen species. *Brain Pathol.* 1999; 9:69–92.
68. Van Meeteren M.E.; Hendriks J.J.; Dijkstra C.D.; van Tol, E.A. Dietary compounds prevent oxidative damage and nitric oxide production by cells involved in demyelinating disease. *Biochem. Pharmacol.* 2004;67:967–975
69. Vladimirova O.; O'Connor J.; Cahill A.; Alder H.; Butunoi C.; Kalman B. Oxidative damage to DNA in plaques of MS brains. *Mult. Scler. J.* 1998;4:413–418.
70. Bedard, K.; Krause, K.H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: Physiology and pathophysiology. *Physiol. Rev.* 2007; 87:245–313.
71. Love, S. Oxidative stress in brain ischemia. *Brain Pathol.* 1999;9:119–131.
72. Gray E.; Thomas T.L.; Betmouni S.; Scolding N.; Love S. Elevated myeloperoxidase activity in white matter in multiple sclerosis. *Neurosci. Lett.* 2008;444:195–198.

73. Gray E.; Thomas,T.L.; Betmouni S.; Scolding N.; Love S. Elevated activity and microglial expression of myeloperoxidase in demyelinated cerebral cortex in multiple sclerosis. *Brain Pathol.* 2008; 18: 86–95.
74. Marik C.; Felts,P.A.; Bauer J.; Lassmann H.; Smith K.J. Lesion genesis in a subset of patients with multiple sclerosis: A role for innate immunity? *Brain* 2007;130:2800–2815.
75. Cheret, C.; Gervais A.; Lelli A.; Colin C.; Amar L.; Ravassard P.; et al. Neurotoxic activation of microglia is promoted by a nox1-dependent NADPH oxidase. *J. Neurosci.* 2008; 28:12039–12051.
76. Schreibelt G., Kooij G., Reijkerkerk A., et al. Reactive oxygen species alter brain endothelial tight junction Dynamics via RhoA, PI3 kinase, and PKB signaling. *FASEB J.* 2007;21: 3666–3676.
77. Lee J.M., Johnson J.A. An important role of Nrf2-ARE pathway in the cellular defense mechanism. *J. Biochem. Mol. Biol.* 2004;37: 139–143.
78. Nguyen T., Yang C.S. , Pickett C.B. The pathways and molecular mechanisms regulating Nrf2 activation in response to chemical stress. *Free Radic. Biol. Med.* 2004; 37:433–441.
79. Chen X.L., Dodd G., Thomas S., et al. Activation of Nrf2/ARE pathway protects endothelial cells from oxidant injury and inhibits inflammatory gene expression. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2006;290:1862–1870.
80. Innamorato N.G., Rojo A.I., García-Yagüe A.J., Yamamoto,M., de Ceballos M.L., Cuadrado, A., The transcription factor Nrf2 is a therapeutic target against brain inflammation. *J. Immunol.* 2008. ;181:680–689.
81. Kim J., Cha Y.N., Surh Y.J. A protective role of nuclear factor- erythroid 2- related factor- 2 (Nrf2) in inflammatory disorders. *Mutat. Res.* 2010;690:12–23.
82. Johnson D.A., Amirahmadi S., Ward C., Fabry Z., Johnson J.. The absence of the pro-antioxidant transcription factor Nrf2 exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Toxicol. Sci.* 2010;114:237–246.

83. Seven A, Aslan M, Incir S, Altıntaş A. Evaluation of oxidative and nitrosative stress in relapsing remitting multiple sclerosis: effect of corticosteroid therapy. *Folia Neuropathol.* 2013;51:58-64.
84. CS Constantinescu , P Freitag,L Kappos Increase in serum levels of uric acid, an endogenous antioxidant, under treatment with glatiramer acetate for multiple sclerosis, *Multiple Sclerosis* 2000;6:378-381.
85. Sanoobar M, Eghtesadi S, Azimi A, Khalili M, Jazayeri S, Reza Gohari M. Coenzyme Q10 supplementation reduces oxidative stress and increases antioxidant enzyme activity in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Int J Neuroscience.* 2013;123:776-782.
86. Miller E, Walczak A, Majsterek I, Kędziora J. Melatonin reduces oxidative stress in the erythrocytes of multiple sclerosis patients with secondary progressive clinical course. *J .Neuroimmunology.* 2013;257:97-101.
87. Tasset I, Bahamonde C, Agüera E, et al. Effect of natalizumab on oxidative damage biomarkers in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Pharmacol Rep.* 2013;65:624-631.
88. Kirbas A, Kirbas S, Anlar O, Efe H, Yilmaz A. Serum paraoxonase and arylesterase activity and oxidative status in patients with multiple sclerosis.*Journal of clinical Neuroscience.* 2013;20:1106-1109.
89. Oliveira SR, Kallaur AP, Simão AN, Morimoto HK, Lopes J, Oxidative stress in multiple sclerosis patients in clinical remission: association with the expanded disability status scale. *Journal of the Neurological science.* 2012 ;321:49-53.

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**FİNGOLİMOD TEDAVİSİ BAŞLANAN MULTİPL SKLEROZ
HASTALARINDA TOTAL OKSİDATİF STRES VE TOTAL ANTİOKSİDAN
KAPASİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Recep YEVGİ

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi : 08.02.2010

Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 03.07.2014

Uzmanlık Sınavı Tarihi : 03.07.2014

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Recep DEMİR

Jüri üyesi : Prof. Dr. İbrahim İYİGÜN

Jüri üyesi : Prof. Dr. Hızır ULVİ

Jüri üyesi : Doç. Dr. Elif ORAL

Jüri üyesi : Yrd. Doç. Dr. Recep DEMİR

Jüri üyesi : Yrd. Doç. Dr. Gökhan ÖZDEMİR

Prof. Dr. Hızır ULVİ
Nöroloji Anabilim Dalı Başkanı

TEMMUZ-2014
ERZURUM