

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ  
KOORDİNASYON BİRİMİ**

**MULTİPL SKLEROZLU (MS) HASTALARDA  
OKSİDATİF STRESİN ARAŞTIRILMASI**

**TSA-08-627**

**NORMAL ARAŞTIRMA PROJESİ**

**SONUÇ RAPORU**

**Proje Yürütücüsü:**

**Prof. Dr. Figen NARİN**

**Biyokimya Anabilim Dalı**

**Araştırmacılar:**

**Prof. Dr. Muzaffer Üstdal Biyokimya Anabilim Dalı**

**Doç.Dr. Gülden Başkol Biyokimya Anabilim Dalı**

**Prof. Dr. Meral Mirza Nöroloji Anabilim Dalı**

**NİSAN 2012**

**KAYSERİ**



## **TEŐEKKÖR**

TSA-08-627 no'lu, Multiple Sklerozlu (MS) Hastalarda Oksidatif Stresin Araştırılması adlı araştırma projesinin gerçekleştirilmesinde destek veren Erciyes Üniuersitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne proje ekibi olarak teőekkÖr ederiz.

Prof.Dr.Figen NARİN

## İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	4
KISALTMALAR.....	5
TABLO LİSTESİ.....	6
ÖZET.....	7
ABSTRACT.....	9
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	11
2. GENEL BİLGİLER.....	12
2.1. MULTİPL SKLEROZ.....	12
2.1.1. KLİNİK ÖZELLİKLER.....	14
2.1.2. MULTİPL SKLEROZ İÇİN TİPİK BELİRTİLER.....	14
2.2. PROTEİN OKSİDASYONU BELİRTEÇLERİNİN KLİNİK ÖNEMİ..	16
2.2.1. İLERİ PROTEİN OKSİDASYON ÜRÜNLERİ.....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1.GEREÇ.....	20
3.1.1. Hasta Grubu.....	20
3.1.2. Kontrol Grubu.....	20
3.2. YÖNTEM.....	21
3.2.1. AOPP Ölçümü.....	21
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	22
4. BULGULAR.....	23
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	24
6. KAYNAKLAR.....	26

## KISALTMALAR

<b>MS</b>	: Multipl Skleroz
<b>AOPP</b>	: İleri Düzey Protein Oksidasyonu
<b>BOS</b>	: Beyin Omurilik Sıvısı
<b>IgG</b>	: İmmunglobulin G
<b>ON</b>	: Optik Nörit
<b>ELİSA</b>	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
<b>EÜTF</b>	: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
<b>GSSG</b>	: Glutatyon
<b>SPSS</b>	: Statical Packages for Social Sciences
<b>PCO</b>	: Protein Karbonil
<b>P-SH</b>	: Protein Tiyol
<b>3-NT</b>	: 3- nitrotirozin
<b>Di-Tyr</b>	: Ditirozin

## **TABLO LİSTESİ**

**Tablo 1 : MS'li grup ile kontrol grubu, yaş, cinsiyet ve plazma AOPP düzeyleri.....18**

# MULTİPL SKLEROZLU (MS) HASTALARDA OKSİDATİF STRESİN ARAŞTIRILMASI

## ÖZET

### **Amaç**

Çalışmamızda, Multipl Skleroz (MS)'li hastalarda oksidatif stresin değerlendirilmesi amacıyla, Advanced Oxidation Protein Products (AOPP)'nin kullanılıp, kullanılmayacağı araştırıldı. MS ve komplikasyonları günümüzde en sık görülen hastalıklardandır ve insidansı giderek artmaktadır. Antioksidan tedavi oksidatif stresi azaltmaktadır. Bu yüzden antioksidan tedavi pek çok hastalık için potansiyel tedavi konumundadır. Oksidatif stresin MS patogenezinde ve komplikasyonlarının oluşumunda rol oynayıp, oynamadığının araştırılması, tedavi için farklı yaklaşımlar geliştirilmesini sağlayabilir.

### **Materyal-Metod**

Çalışmaya MS tanısı konan, ortalama yaşları  $35 \pm 10,39$  olan 6 kadın 4 erkek hasta alındı. Başka bir hormonal veya sistemik hastalığı olanlar çalışma dışı bırakıldı. Tanı, hastalıkla uyumlu anamnezin alınması, fizik muayene bulgularının tespiti ve bunları destekleyen

laboratuvar ve görüntüleme yöntemleri ile kondu. Çalışmaya, yaş aralığı hasta grubuna benzer olacak şekilde 10 kişi kontrol grubu olarak alındı. Bunlardan 7 tanesi bayan, 3 tanesi erkekti.

### **Yöntem**

Hastalardan kan numuneleri EDTA içeren tüplere alındı. Alınan kan numunelerinden AOPP ölçümü yapıldı.

### **Bulgular**

MS'li grup ile kontrol grubu arasında yaş, cinsiyet ve plazma AOPP düzeyleri açısından istatistiksel olarak farklı bulunmadı.

### **Sonuç**

MS'li hastalarda protein oksidasyonunun olmadığı düşünüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Multipl Skleroz, oksidatif stres, Advanced Oxidation Protein Products



## **INVESTIGATION OF OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS**

### **ABSTRACT**

#### **Aim**

In our study we aimed to find out whether Advanced Oxidation Protein Products (AOPP) could be used in the evaluation of oxidative stress in Multiple Sclerosis (MS). MS and its complications are one of the most common diseases and its incidence is gradually increasing. Oxidative stress is decreased by antioxidant therapy. Therefore antioxidant therapy is being a potential treatment for many diseases. Investigation the role of oxidative stress in pathogenesis and formation of the complications of MS may help to develop different approaches for the treatment.

#### **Material and Method**

Six female and 4 male MS patients ,whose average age was  $35 \pm 10,39$ , were included in the study. The ones having any hormonal and systemic problems were excluded from the study. Diagnosis was put according to patient medical history, physical examination, supporting laboratory findings, imaging studies. Control group was formed by 10 patients having similar age interval with patient group. Seven of this group was female and 3 of them was male. Blood samples were taken in tubes with EDTA and AOPP measurement was done with these samples.

**Results**

There was not statistically significance in age, sex and plasma AOPP levels between patient and control group.

**Conclusion:**

It was thought that there was not protein oxidation in the MS patients.

**Key Words:** Multiple Sclerosis,oxidative stress, Advanced Oxidation Protein Products

## **1.GİRİŞ VE AMAÇ**

Çalışmamızda, Multipl Skleroz (MS)'li hastalarda oksidatif stresin değerlendirilmesi amacıyla, Advanced Oxidation Protein Products (AOPP)'nin kullanılıp, kullanılmayacağı araştırıldı. MS ve komplikasyonları günümüzde en sık görülen hastalıklardandır ve insidansı giderek artmaktadır. Antioksidan tedavi oksidatif stresi azaltmaktadır. Bu yüzden antioksidan tedavi pek çok hastalık için potansiyel tedavi konumundadır. Oksidatif stresin MS patogenezinde ve komplikasyonlarının oluşumunda rol oynayıp, oynamadığının araştırılması, tedavi için farklı yaklaşımlar geliştirilmesini sağlayabilir.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. MULTİPL SKLEROZ**

Multipl skleroz (MS), genç erişkinlerde görülen, genellikle ataklar ve düzelmeler ile seyreden, genetik olarak duyarlı kişilerde çevresel faktörlerin tetiklediği otoimmün mekanizmalar yoluyla gelişen, santral sinir sisteminin demiyelinizan kronik bir hastalığıdır. MS ile ilgili ilk bilgiler, Charles Prosper Ollivier d'Angers'in 1824 yılında yaptığı bildiriye dayanmaktadır. Yıllar içinde çeşitli çalışmalarda MS'in patolojik bulguları, klinik bulguları ve seyrinden bahsedilmiş, 1868 yılında Jean-Martin Charcot, MS'in klasik tarifini, klinik-patolojik bulgularını ve tablolarını yazmıştır (1).

MS, sıklıkla genç erişkinlerde görülür. 20-30 yaşları arasında en siktir. 10 yaşından önce ve 60 yaşından sonra görülmesi nadirdir. Kadın/erkek oranı 1.4/3.1 dir. Başlangıç yaşı geç olan hastalarda, cinsiyet oranı eşit olarak bildirilmektedir (2).

Coğrafi özelliklere bakıldığında, çok sayıda epidemiyolojik çalışma sonuçlarının değerlendirilmesi ile belirlenen yüksek, orta ve düşük prevalanslı coğrafi bölgeler tarif edilmiştir.

Aynı coğrafyada yaşayan farklı ırk ve etnik gruplarda belirgin prevalans farklılıkları bildirilmiştir. MS hastalığı açısından beyaz ırk yüksek risk altındayken siyah ırk ve Asyalılar daha düşük risk oranlarına sahiptir. Irkla ilgili diğer ilginç bir bulgu da klinik prezentasyonun ırka göre farklı olmasıdır. Japonlarda optik sinir ve spinal kord sıklıkla tutulurken, Avrupa ve Kuzey Amerika'da bu klinik prezentasyon nadirdir. Prevalansın, farklı coğrafi bölgelerdeki değişkenliği, çalışmaların göçmenler üzerinde odaklanmasına neden olmuştur (1). Bu çalışmalar, çevresel faktörlerin, genetik faktörler sabitken, MS riskine etkileri açısından kanıt sağlamaktadır. Bunun yanında göç yaşının da önemli olduğu vurgulanmaktadır; 15 yaşın altındaki göçmenlerde, prevalansı yüksek bölgeden, daha düşük prevalanslı bölgeye göç halinde MS riskinin düştüğü gösterilmektedir (1,2).

MS etiyojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, genetik olarak yatkın bireylerde bakteriyel ya da viral enfeksiyon gibi çevresel etkenlerin otoimmün mekanizmaları tetikleyerek, MS'in başlangıcında ya da atakların oluşmasında önemli olduğu kabul edilmektedir (1, 2). Bu genetik yatkınlığın kalıtsal olduğu, 6.kromozomun kısa kolunda lokalize HLA DR-DQ bölgesine yakın genlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. İkiz ve aile çalışmaları, bu genetik yatkınlığı desteklemektedir.

MS lezyonlarının histopatolojisi, fokal inflamasyon, demiyelinizasyon, oligodendrosit kaybı, remiyelinizasyon ve reaktif astrogliazdır. Aksonlar görece korunmuş olsalar da, son dönem çalışmaları, başlangıçtaki inflamatuvar demiyelinizasyon sırasında bile immün moleküllerin akson zedelenmesi ve onun klinik yansıması olan dizabileden sorumlu olduğunu ortaya koymaktadır (1). MS immünopatogenezinde, diğer otoimmün hastalıklarda olduğu gibi, süpresör CD8 + T hücreleri azalır. Antikor oluşturan B hücreler de aktive olurlar. BOS'ta IgG

sentez hızı ve miktarı artar. Bazı klonlar aktive olduğundan yanıt oligoklonaldır. Perivasküler lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu karakteristiktir (2).

### 2.1.1. KLİNİK ÖZELLİKLER

MS tanısı, santral sinir sisteminin farklı bölgelerinin tutulumunun klinik olarak ortaya çıkarılması ile konur. SSS'ne ait birçok farklı belirti ve bulgunun farklı zamanlarla ortaya çıktığı bir tablo söz konusudur (1, 2).

### 2.1.2. MS İÇİN TİPİK BELİRTİLER

**Duyusal belirtiler.** MS hastaları tarafından en çok tanımlanan belirtilerdir. Sensorial belirtiler algılama bozuklukları, iğnelenme ve zaman zaman yanmalar şeklinde tanımlanan rahatsızlık hissini (disestezi) içerir ve bunlar objektif bozukluklar olmaksızın günler, haftalar veya aylarca süreklilik gösterebilir. MS tanısından şüphe edilen hastalarda eski duysal belirtilerin oluşumu mutlaka sorgulanmalıdır.

**Motor belirtiler.** MS hastalarında en sık rastlanan belirti ekstremitelerde kuvvet kaybı, parezi ya da pleji durumudur. Hastalarda birinci motor noron tipi, alt ekstremitelere ait giderek artan kuvvetsizlik ve sertleşme, progresif duruş bozukluğu, paraparezi sık izlenen şikayetlerdir. Nörolojik incelemede spastisite, artmış derin tendon refleksleri ve ekstansor plantar yanıtlar saptanır.

**Görme ile ilgili belirtiler.** Optik nörit (ON), MS'te başlangıç belirtileri arasında sık görülebilen bir belirti olup; bir gözde ani görme kaybı ve ağrı ile birlikte genellikle tek taraflı başlar. Bu durum etkilenen gözde total görme kaybına dek ilerleyebilir. Görme korunduğunda monookuler bulanıklaşma, santral, parasantral skotom ve renkli görme bozukluğu olur. ON sonrasında pek çok hasta pek çok yıl herhangi bir şikayet tanımlamaz veya ardından herhangi bir zamanda beyin ya da spinal kord belirtileri gelişebilir. Tüm ON'ler MS'e dönüşmeyip ani başlangıçlı tanımlayan adölesan ve genç erişkinlerin ancak % 50 inde MS gelişmektedir (3). ON ile ek belirtilerin gelişimi arasında uzun zaman aralığının olması, iyi prognoza işaret

edebilir. Klinisyen ON ile başvuran her hastada daha önceye ait belirtileri sorgulamalıdır. Dramatik görsel belirtilerin gelişiminden önce başka belirtilerin olması benign prognozu göstermektedir. Kranial MRI'da dörtten fazla demiyelinizan lezyon varlığı veya beyin omurilik sıvısında (BOS) oligoklonal band varlığı MS'e dönüşme riskini artırıcı faktörler olarak bulunmuştur.

**Spinal kord belirtileri.** MS tanısı alan hastaların çoğunda spinal kord tutulumuna bağlı bulgulara rastlanır. Her iki alt ekstremitede artmış tonusla birlikte spastik paraparezi, artmış tendon refleksleri ve iki taraflı plantar eksantor cevap, mesaneye ait fonksiyon bozuklukları sık rastlanılan bulgulardır.

**Hafıza kaybı.** MS'da bozulmuş kognitif işlemler nadir değildir. Bu durumda hastalar sıklıkla verbal fonksiyonlarda kayıp ağırlıklı bir hafıza problemi gösterirler. Vakaların yaklaşık % 50'sinde görülen demans, RRMS formunda progresif forma göre daha az birliktedir. Periventrikuler bölgedeki beyaz cevherin demiyelinizasyonu bu hastalarda konuşma sırasında uygunsuz gülme ve yersiz ağlama gibi duygusal patlamalarına sebep olur (3, 4).

**Depresyon.** Depresyon ve bipolar affektif bozukluk MS'le yakından ilişkilidir. Hatta bazı vakalarda MS belirtilerine öncülük edebilir. Aşırı heyecan veya sosyal ilişkilerdeki daha az inhibisyonla gözlenen karakter ya da kişilik değişiklikleri aile üyelerinde huzursuzluğa yol açabilir.

**Nöbet.** MS'lu hastalarda normal popülasyondan daha yüksek oranda (%1-5) epilepsiye rastlanır. Nöbetler kortikal ya da subkortikal alanlardaki lezyonlardan kaynaklanır.

**Tonik spazmlar.** Tonik spazmlar herhangi bir motilite veya hiperventilasyon ile başlayan kısa süreli unilateral stereotipik kasılmalardır. 30-90 saniye sürerler ve vücudun bir tarafının tamamını yada bir kısmını tutar. Eller, el parmakları, ayaklar ve ayak parmakları psödodistonik bir postur alabilirler.

**Lhermitte Bulgusu.** Başın eğilmesi sonucu omurga boyunca ekstremitelere yayılan elektriklenme gibi bir his ortaya çıkabilir. Bu fenomene Lhermitte bulgusu denir varlığında spinal korda ait tutulum araştırılmalıdır; ancak patognomik değildir.

**Yorgunluk.** Hastaların çoğunda merkezi yorgunluk (fatigue) vardır. Başlangıcı ani ve şiddetlidir. Hastalar çok basit işleri bile yapamazlar. Yorgunluk özellikle yüksek atmosferik sıcaklıklarda tetiklenir. Hastaların çoğu yaz aylarında fonksiyonlarının zayıflamasından Őikayetidirler. Hastaların 2/3'u ısıya karşı oldukça hassastır.

**Ağrı.** MS'te ağrı nadiren de olsa hastalığın rahatsız edici başka bir bulgusudur. Hastaların %80'inde ağrılı kas spazmlarına, aralıklı veya sürekli ekstremitte ağrularına yada omurga ağrularına rastlanır. Primer ağrı genellikle alt ekstremitte olan disestetik ağrıdır. Ancak trunkal ve st ekstremitte disestezisi de olabilir. Trigeminal nevraljisi olan ge bir hastada her zaman MS'dan Őphelenilmelidir.

**Konstipasyon ve diyare.** Hastaların bir kısmında otonom tutulumuna bağlı konstipasyon veya diyare gorulebilir. Konstipasyon, MS hastalarında çok sık karşılaşılan bir durumdur. Konstipasyon nedenleri arasında pelvik duvar spastisitesi, gastro-kolik refleks azalması, su içiminin azalması, motilite azlığı, karın kaslarında güçsüzlük, kötü fiziksel durumlar ve kullanılan ilaçlar örn: antikolinergikler, antidepresanlar, kalsiyum, antispasitite ilaçları, narkotikler sayılabilir (5).

## **2.2. PROTEİN OKSİDASYONU BELİRTEÇLERİNİN KLİNİK ÖNEMİ**

Proteinler oksidanlara maruz kaldıklarında birçok kovalent değişikliğe uğrar. Bu değişikliklerden bazıları serbest radikallerin protein molekülleri üzerine direkt etkileri sonucu oluşabildiği gibi, bazıları da oksidasyon yan ürünlerinin proteinlere kovalent olarak bağlanması ile meydana gelir. Proteinlerin radikal aracılı hasarı; elektron kaybı, metal-iyon katalizli reaksiyonlar, lipit ve Őekerlerin otooksidasyonu ile başlatılabilmektedir. Bu rnlerin



oluşum hızının artması veya temizleyici mekanizmaların yetersiz kalması, proteinlerde dahil olmak üzere diğer hücrel moleküllerdeki oksidatif modifikasyonların artışına yol açar. Pek çok sayıda mekanizmanın protein oksidasyonuna neden olduğu bilinmektedir. Proteinlerde yapısal değişikliğe yol açan başlıca moleküler mekanizmalar: PCO oluşumu ile karakterize edilen metal katalizli protein oksidasyonu, protein tiyol (P-SH) gruplarının kaybı, 3-nitrotirozin (3-NT), ditirozin (diTyr), oluşumu olarak sıralanabilir. Potansiyel olarak bütün amino açıl yan zincirleri oksidatif modifikasyona uğrayabilme özelliğindedir. Bu yüzden, çok sayıda ve farklı çeşitte oksidatif protein modifikasyonu olmasına bağlı olarak, protein oksidasyonunun tek bir evrensel belirteci yoktur. Bazı oksidatif protein modifikasyonları, hem oksidasyona uğrayan amino asit bakiyesi, hem de oluşturulan ürünler bakımından gayet spesifiktir. Bazı oksidatif protein modifikasyonları ise global özellik taşır, çok sayıda amino asit bakiyesinde değişikliğe yol açarak, yine çok sayıda ürün oluşturabilir. Spesifik modifikasyonlara tirozin'nin ditirozine dönüşümü, global modifikasyonlara ise Pro, Arg, Lys, ve Thr amino asitlerinin yan zincirlerinin, 4-hidroksi-2-nonenal ile reaksiyonu sonucunda oluşan PCO'ler örnek olarak gösterilebilir. Protein oksidasyonunun saptanmasında HPLC, ELISA, izotop dilüsyon gaz kromatografisi-kütle spektrofotometrisi, Western blot ve spektrofotometri teknikleri kullanılmaktadır. 3-NT, diTyr gibi spesifik belirteçler biyolojik materyallerde oldukça düşük düzeyde bulunduğu için, bu belirteçlerin düzeylerinin saptanması oldukça duyarlı ve pahalı yöntemleri gerektirmektedir. Bu yöntemlerin uygulanması oldukça yüksektir (6-8).

Spesifik modifikasyonlar risk açısından değerlendirildiğinde; global modifikasyonlara göre protein molekülünün daha küçük bir kısmında etkili olması nedeniyle, protein fonksiyonları için daha az bir risk taşır.

Lipit peroksidasyon ürünleri ile karşılaştırıldığında, PCO gruplarının oksidatif stres belirteci olarak kullanılmasının bazı avantajları vardır. PCO'nin bu avantajları arasında nispeten erken

dönemde oluşması ve stabil olması sayılabilir. Yanlış katlanmış proteinler, doğal proteinlere göre geri dönüşümsüz bir protein modifikasyonu olan karbonilasyona daha yatkındır. Karbonilasyona uğramış protein onarılamayacağından, proteozom kompleksinin rol oynadığı proteolitik metabolik yola yönlendirilir. Hücreler oksidasyona uğramış proteinleri saatler ve günler içinde yıktığı halde, lipid peroksidasyon ürünlerini dakikalar içinde yıkmaktadır. Hastalarda erken dönemde oluşan PCO grupları, oksidatif stresin diğer parametreleri olan glutasyon disülfid (GSSG) ve malondialdehit ile karşılaştırıldığında uzun dönem kan dolaşımında kalır. PCO'lerinin yüksek düzeyde bulunması sadece oksidatif stresteki artışı değil, aynı zamanda protein fonksiyon bozukluğunu göstermektedir. PCO'lerinin kimyasal olarak dayanıklılığı, PCO'ni laboratuvar ölçümleri için uygun bir parametre haline getirmektedir. PCO'nin -80°C'de 3 ay süreyle stabil olduğu gösterilmiştir.

Pek çok hastalıkta, oksidatif stresin bir sebep mi, yoksa primer hastalık sürecinin bir sonucu mu olduğu açık değildir. Diğer taraftan, protein oksidasyonu, protein fonksiyon bozukluğu ve hastalıklar arasındaki ilişkiler de büyük ölçüde açıklığa kavuşmamıştır. Bununla birlikte enzimlerin ve yapısal proteinlerin oksidatif modifikasyonlarının hastalıkların etyolojisinde önemli rol oynayabileceği kesinlik kazanmıştır. Günümüzde oksidatif stres çalışmalarındaki en büyük çaba, çeşitli insan hastalıklarında spesifik olarak okside olmuş proteinlerin tanımlanması üzerine yoğunlaşmaktadır (9-11).

### **2.2.1 İLERİ OKSİDASYONLU PROTEİN ÜRÜNLERİ (AOPP):**

Reaktif oksijen türleri (ROT) vücutta sürekli olarak oluşmaktadır. ROT, inflamatuvar ve dejeneratif hastalıklar gibi insandaki birçok patolojik duruma katkıda bulunur. Oksidatif stresin kritik olan hastaların hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. (57, 58). Serbest radikal zararına neden olan dört ana grup ürün vardır. Bunlar lipid peroksidazlar, isoprostenazlar, DNA hidroksilasyon ürünleri ve protein karbonil bileşikleridir.

Oksidatif stresin değerlendirilmesinde çok sayıda uygulanabilecek yöntem olduğu halde, bu yöntemlerin birçoğunun otomasyon eksikliği ve/veya karışık yöntemlerinden dolayı rutin klinik laboratuvarlarında kullanılamamaktadır. Örneğin isoproteinazların ölçümü büyük doğruluğa sahiptir ve vücut sıvılarındaki lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde güvenilirdir. Fakat karışık yönteminden dolayı klinik çalışmalarda kullanımı sınırlanmaktadır (9-11).

1996'da kronik üremik hastaların plazmasında, Advanced oxidation protein products (AOPP) olarak adlandırılan, yeni bir oksidatif stres belirteci tespit edildi ve çalışma şekli klinik kimya analizrlerine programlandı.

AOPP'nin mononükleer fagositleri aktive ederek, nötrofil ve monositler arasında sitokin benzeri medyatör gibi davrandığı da öne sürülmektedir.

Bu bilgilerin ışıkında biz de alışmamızda MS'li hastalarda oksidan durumun değerlendirilmesi için AOPP'nin kullanılıp, kullanılamayacağını tespit etmeyi amaçladık.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. GEREÇ**

Biyokimyasal ve Genetik ölçümlerde, Sigma marka analitik saflıkta kimyasal maddeler kullanıldı. Çalışmalarda, spektrofotometre (Shumadzu U.V Visible 1601), analitik terazi (A&DGR-200), pH metre (WTW ph 330 i), soğutmalı santrifüj (Sigma 3K 30), değişik ölçü ve markalarda otomatik pipetler, cam pipetler, balon jojeler, beherler ve polistren tüpler kullanıldı.

Çalışmada kullanılan çözeltiler, deiyonize su ile hazırlandı. Çalışmada kullanılan tüm cam malzemeler deiyonize su ile yıkandıktan sonra bir gün boyunca %20'lik HNO<sub>3</sub> içinde bekletildi ve sonrasında tekrar deiyonize su ile yıkandı.

##### **3.1.1. Hasta Grubu**

Erciyes Üniversitesi Nöroloji Anabilim Dalı polikliniğine başvuran, tanısı klinik ile laboratuvar (oligoklonal bant elektroforezi ) bulgularına dayanan 10 MS'li hasta alındı. Bu hastalardan 6'sı bayan, 4 tanesi erkekti.

##### **3.1.2. Kontrol Grubu**

Çalışmamıza 10 kişi kontrol grubunu oluşturdu. Bunlardan 7 tanesi bayan, 3 tanesi erkek bireyden oluşmaktadır. Kontrol grubu yaş aralığı, hasta grubuna benzer şekilde idi.

### 3.2. YÖNTEM

Hastalardan iki adet 2 mL venöz kan örneği EDTA içeren tüplere alındı. Alınan kan örneklerinden EDTA'lı tüplerdekiler AOPP ölçümü için kullanıldı.

#### 3.2.1. AOPP Tayini

AOPP ölçümü, Witko-Sarsat ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen spektrofotometrik metodla gerçekleştirildi.

#### Reaktifler

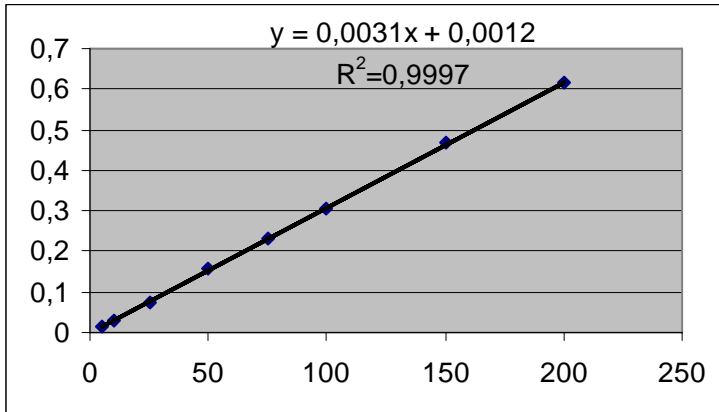
- Fosfat Tamponu (PBS pH 7.4)
- Kloramin- T Standartları (5-200 µmol/L)
- Asetik Asit
- Potasyum İyodür (KI 1.16 mol/L)

#### Çalışma

Fosfat Tamponu (PBS pH 7.4) ile dilüe (1:5) edilen serum ve kloramin-T standart çözeltilerinin (0-200 µmol/L) 800 µL'sine, 10 µL 1.16 mol/L KI ve 20 µL asetik asit ilave edildi. Reaksiyon karışımının absorbanı spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda ölçüldü. AOPP düzeyleri, Kloramin-T ekivalentlerinden µmol/L olarak belirlendi.

#### Standart Serinin Hazırlanması

200 µmol/L konsantrasyondaki stok kloramin-T çözeltisi, uygun oranlarda dilue edilerek 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150 ve 200 µmol/L konsantrasyonlarında standart seri hazırlandı. Standartlar numune gibi çalışıldı.



AOPP düzeyi için CV değeri % 6 olarak bulundu.

### **3. 3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Hasta grubu ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmalar için Mann Whitney-U testi kullanıldı. Tüm istatistiksel analizler ‘‘SPSS for Windows versiyon 11.0’’ paket program ile yapıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık  $p < 0.05$  kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Bulgular tablo 1’de özetlendi. MS’li grup ile kontrol grubu, yaş, cinsiyet ve plazma AOPP düzeyleri açısından istatistiksel olarak farklı bulunmadı.

Tablo1. MS’li grup ile kontrol grubu, yaş, cinsiyet ve plazma AOPP düzeyleri

<b>Parametreler</b>	<b>MS</b>	<b>Kontrol</b>	<b><i>p</i></b>
<b>Yaş</b>	<b>35 ±10,39</b>	<b>37 ± 10,93</b>	p>0,05
<b>Plazma AOPP Düzeyi</b>	<b>171,76 ± 64,41</b>	<b>168,03 ± 77,03</b>	p>0,05

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

MS ve komplikasyonları günümüzde en sık görülen hastalıklardandır ve insidansı giderek artmaktadır. Oksidatif stres pek çok hastalığın patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Antioksidan tedavi de oksidatif stresi azaltmaktadır. Bu yüzden antioksidan tedavi pek çok hastalık için potansiyel tedavi yöntemidir. Oksidatif stresin MS patogenezi ve komplikasyonlarının oluşumunda oynadığı rol göz önüne alınırsa tedavi için farklı yaklaşımlar geliştirilebilir.

Protein oksidasyon ürünleri de oksidatif stresin önemli göstergelerinden biridir. Hastalığın ilerlemesindeki artış ile protein oksidasyonu arasında kuvvetli bir ilişki olduğu ifade edilmektedir. Pek çok hastalıkta, oksidatif stresin bir sebep mi, yoksa primer hastalık sürecinin bir sonucu mu olduğu açık değildir.



Oksidatif stresin direkt in vivo ölçümü oldukça karmaşıktır. Bunun yerine pratik ve ölçümü kolay yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu da oksidatif modifiye ürünlerin ikincil ürünlerinin tesbitiyle yapılmaya çalışılmaktadır. AOPP oksidatif stres süresince üretilir. Aktive nötrofillerdeki myeloperoksidaz tarafından hipokloröz asit ve kloraminlerin etkileşimi yoluyla üretimi gerçekleşir. Ditrozin içeren çapraz bağlı proteinler olarak tanımlanır ve proteinlerin oksidatif modifikasyonunu ölçmek için güvenli bir belirteç olarak tanımlanabilir. Bizim çalışmamızda plazma AOPP düzeylerinde, MS'li hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı biçimde fark olmadığı tesbit edildi ( $p>0,05$ ). Sonuç olarak MS'li hastalarda protein oksidasyonunun olmadığı düşünüldü.

## **6. KAYNAKLAR**

1. Tunalı G. Türkiye Klinikleri Nöroloji Multipl Skleroz Özel Sayısı, Cilt:2, Sayı:3, Aralık 2004
2. Rowland PL. Meritt's Textbook of Neurology, Tenth Edition, Section XIX., Chapter 133: 773-792.
3. Victor M, Ropper H. A. Adams and Victor's Principles of Neurology. 7. Edition, McGraw-Hill, New York,. 2001; 954-979
4. Gilroy J. Temel Nöroloji. Çeviri ed. Rana Karabudak, 3.baskı, Güneş yayınevi. Ankara 2002;199-219.
5. Wiesel P H, Norton C, Glickman S, Kamm M. Pathophysiology and management of bowel dysfunction in multiple sclerosis. European journal of Gastroenterology & Hepatology. 2001; 13: 441-448.

6. Descamps-Latscha B., Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. *Kidney Int* 2001; 59 (Suppl.78): S108-S113.
7. Çakatay U, Kayalı R. The clinical importance of protein oxidation. *Cerrahpaşa J Med* 2004; 35: 140-149.
8. Gutteridge JM, Mitchell J. Redox imbalance in the critically ill patients. *Br Med Bull* 1999; 55: 49-75.
9. Goodyear-Bruch C, Pierce JD. Oxidative stress in critically ill patients. *Am J Crit Care* 2002; 11: 543-51.
10. Del Rio D, Serafini M, Pellegrini N. Selected Methodologies to assess oxidative/antioxidant status in vivo: a critical review. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2002; 12: 343-51.
11. Witko-Sarsat V., Friendlander M., Capeillere-Blandin C., et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996; 49: 1304-1313.