T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. ARZU AY

MULTİPLE SKLEROZ'DA METİYONİN SENTAZ (A2756G), METİYONİN SENTAZ REDÜKTAZ (A66G) VE METİLENTERAHİDROFOLAT REDÜKTAZ (C677T) GEN VARYASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

AYŞE NUR ÇEŞME

Referans no: 10542153

EDİRNE-2025

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. ARZU AY

MULTİPLE SKLEROZ'DA METİYONİN SENTAZ (A2756G), METİYONİN SENTAZ REDÜKTAZ (A66G) VE METİLENTERAHİDROFOLAT REDÜKTAZ (C677T) GEN VARYASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

AYŞE NUR ÇEŞME

Destekleyen Kurum: TÜBAP 2023/146

EDİRNE-2025

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI ..... **İ**
ETİK BEYAN ..... **İİ**
İTHAF ..... **İİİ**
TEŞEKKÜR ..... **İV**
SİMGE VE KISALTMALAR ..... **V**
ÖZET ..... **Vİ**
ABSTRACT ..... **Vİİ**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **2**
2.1. Multiple Skleroz **2**
2.1.1. Multiple Skleroz'un Etiyolojisi **3**
2.1.2. Multiple Skleroz'un Patogenezi **4**
2.1.3. Multiple Skleroz'da Risk Faktörleri: **4**
2.1.4. Multiple Skleroz'da Ölüm Oranları: **5**
2.1.5. Multiple Skleroruz'un Epidemiyolojisi: **5**
2.1.6. Türkiyede Multiple Skleroz'un Epidemiyolojisi: **6**
2.2. Multiple Skleroz'da Genetik Yatkınlık Faktörü **6**
2.2.1. Folat ve Homosistein Mekanizmaları **6**
2.2.2. MTR (A2756G) Geni **7**
2.2.3. MTRR (A66G) Geni **7**
2.2.4. MTHFR (C677T) Geni **7**
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER **9**
3.1. Gereçler **9**
3.1.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Kan Numuneleri **10**
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler **11**
3.1.3. Çözeltiler **11**
3.1.4. DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler: **12**
3.1.5. Kullanılan Cihazlar **12**
3.2. Yöntemler **12**
3.2.1. Deoksiribo Nükleik Asit İzolasyonu **12**
3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu **13**

3.2.3. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi Yöntemi 16
3.3. İstatistiksel Analiz..... 16
4. BULGULAR 17
4.1. MTR (A2756G) Gen Varyasyonu İçin Genotip Dağılımları 22
4.2. MTRR (A66G) Gen Varyasyonu İçin Genotip Dağılımları..... 24
4.3. MTHFR (C677T) Gen Varyasyonu İçin Genotip Dağılımları 26
5. TARTIŞMA..... 29
KAYNAKLAR..... 32
EKLER I
EK 1: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı I
EK 2: Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Onayı II
EK 3: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (MS) III
EK 4: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Kontrol Grubu)..... VII
ÖZGEÇMİŞ XI
BENZERLİK RAPORU XII

ONAY SAYFASI

ETİK BEYAN

"Multiple Skleroz'da Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) Ve Metilenterahidrofolat Redüktaz (C677T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması" adlı bana ait olan tez çalışmamın bütün aşamalarında etik dışı davranışımın olmadığını, bütün verileri ve bilgileri akademik ve etik kurallar içerisinde elde ettiğimi, verilerde ve sonuçlarda herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezimin yazımında yapay zeka yazılımları kullanmadığımı, diğer kaynaklardan elde ettiğim bilgi ve yorumlara tezimde uygun şekilde kaynak gösterdiğimi ve kaynaklar bölümünde yer verdiğimi, patent ve telif haklarını ihlal edici herhangi bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Ayşe Nur Çeşme

İmza

İTHAF

“Doç. Dr. Arzu AY’a” ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez sürecim boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, en zorlandığım anlarda desteğini esirgemeyen tez danışmanım Biyofizik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Arzu Ay'a, yüksek lisans eğitimimde ders aldığım Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Tammam Sipahi hocama ve tüm hocalarıma, tezimdeki biyoistatistiksel analizler için Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Necdet Süt'e, hasta materyalini sağlamamda yardımcı olan Nöroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sezgin Kehaya'ya, hasta koordinasyonunda yardımcı olan Nöroloji Anabilim Dalı hemşiresi Ayfer Güneş'e ve projemize olan desteği için TÜBAP birimine teşekkür ederim.

SİMGE VE KISALTMALAR

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

EBV: Epstein-Barr Virüsü

EDTA: Etilendiamintetraasetik Asit

MS: Multiple Skleroz

MTHFR: Metilentetrahidrofolat Redüktaz

MTR: Metiyonin Sentaz

MTRR: Metiyonin Sentaz Redüktaz

PPMS: Primary Progressive Multiple Sclerosis (Birincil İlerleyici Multiple Skleroz)

PRMS: Progressive Relapsing Multiple Sclerosis (Nükslerle İlerleyen Multiple Skleroz)

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RFUP: Retriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi

RRMS: Remitting Relapsing Multiple Sclerosis (Tekrarlayan Düzelen Multiple Skleroz)

SPMS: Secondary Progressive Multiple Sclerosis (İkincil İlerleyici Multiple Skleroz)

TEB: Tris EDTA Borik Asit

UV: Ultraviyole

ÖZET

"Multiple Skleroz'da Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) ve Metilenterahidrofolat Redüktaz (C677T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması", Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, 2025.

Giriş ve Amaç: Multiple skleroz (MS) dünya çapında 2,8 milyondan fazla kişiyi etkilemekte olup karmaşık gen çevre etkileşimi nedeniyle etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. MS'e katkıda bulunduğu düşünülen çok sayıda gen grubu bulunmaktadır.

MS'in patogenezinde santral sinir sisteminde önemli rolleri olan folat ve homosistein mekanizmasının etkili olduğu düşünülmektedir. MS riski olan kişilerde hastalığın erken tanısı ve tedavisine katkı sağlayabilecek genetik etkilerin belirlenmesi için folat ve homosistein mekanizmalarını etkileyebileceğini düşündüğümüz MTR (A2756G), MTRR (A66G) ve MTHFR (C677T) gen varyasyonlarını araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmada 102 MS tanılı hastadan ve 102 sağlıklı kontrol grubundan alınan venöz kandan DNA örnekleri elde edildi. Elde edilen DNA örneklerinden polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve retriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFUP) yöntemleri kullanılarak MTR (A2756G), MTRR (A66G), MTHFR (C677T) gen varyasyonları genotip dağılımları bulunarak hastalığa yatkınlık belirlendi.

Bulgular: Multiple skleroz hastalarının ailesinde MS görülme oranı sağlıklı kontrol grubuna oranla istatistiksel açıdan anlamlı olarak yüksek bulundu. MS'li hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında MTR (A2756G) ve MTHFR (C677T) gen varyasyonlarının genotip dağılımında anlamlı bir fark bulunamadı. MTRR (A66G) genotip dağılımında MS tanılı grupta AA genotipi kontrol grubuna oranla istatistiksel açıdan anlamlı olarak yüksek bulundu. MTRR (A66G) AG genotipi ise kontrol grubunda hasta grubuna oranla istatistiksel açıdan anlamlı olarak yüksek bulundu.

Sonuç: Çalışmamız sonuçlarına göre ailesinde multiple skleroz olan kişilerin MS riskinin arttığı, MTRR (A66G) gen varyasyonunun AA genotipinin MS hastalığına karşı risk oluşturabileceği ve MTRR (A66G) AG genotipinin MS karşı koruyucu faktör olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Multiple skleroz, MTR (A2756G), MTRR (A66G), MTHFR (C677T) gen varyasyonları

Destekleyen Kurum: Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2023/146.

ABSTRACT

"Investigation of Methionine Synthase (A2756G), Methionine Synthase Reductase (A66G) and Methyleneterahydrofolate Reductase (C677T) Gene Variations in Multiple Sclerosis", Trakya University, Institute of Health Science, Biophysics Department, Master Thesis, Edirne, 2025.

Background and Aim: Multiple sclerosis (MS) affects more than 2.8 million people worldwide and its etiology is not fully known due to complex gene-environment interactions. There are many gene groups thought to contribute to MS.

It is thought that folate and homocysteine mechanisms, which play important roles in the central nervous system, are effective in the pathogenesis of MS. We aimed to investigate MTR (A2756G), MTRR (A66G) and MTHFR (C677T) gene variations, which we think may affect folate and homocysteine mechanisms, in order to determine genetic effects that may contribute to the early diagnosis and treatment of the disease in people at risk for MS.

Materials and Methods: In this study, DNA samples were obtained from venous blood taken from 102 patients diagnosed with MS and 102 healthy controls. From the obtained DNA samples, genotype distributions of MTR (A2756G), MTRR (A66G), MTHFR (C677) gene variations were found using polymerase chain reaction (PCR) and retraction fragment length polymorphism methods and predisposition to the disease was determined.

Material and Methods: In this study, DNA samples were obtained from venous blood taken from 102 patients diagnosed with MS and 102 healthy controls. The genotype distributions of MTR, MTRR, MTHFR gene variations were found using polymerase chain reaction (PCR) and retraction fragment length polymorphism (RFLP) methods from the obtained DNA samples and the predisposition to the disease was determined.

Results: The incidence of MS in the families of multiple sclerosis patients was found to be statistically significantly higher than in the healthy control group. No significant difference was found in the genotype distribution of MTR (A2756G) and MTHFR (C677T) gene variations between the MS patient and healthy control groups. In the MTRR (A66G) genotype distribution, the AA genotype was found to be statistically significantly higher in the MS diagnosed group than in the control group. The MTRR (A66G) AG genotype was found to be statistically significantly higher in the control group than in the patient group.

Conclusion: According to the results of our study, we think that people with multiple sclerosis in their family have an increased risk of MS, that the AA genotype of the MTRR (A66G) gene variation may pose a risk for MS disease, and that the MTRR (A66G) AG genotype may be a protective factor against MS.

Keywords: Multiple sclerosis, MTR (A2756G), MTRR (A66G), MTHFR (C677T) gene variations

Financial Support: The present study was supported by the Research Fund of Trakya University. Project No: 2023/146.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl skleroz (MS), küresel düzeyde 2 milyondan fazla kişiyi etkileyen, demiyelinizan lezyonlarla karakterize, nörodejeneratif ve inflamatuar bir merkezi sinir sistemi bozukluğudur (1,2). Küresel düzeyde ülkelerin yaptıkları bildirimlere göre, tekrarlayan düzelen MS (RRMS), birincil ilerleyici MS (PPMS) ve ikincil ilerleyici MS (SPMS) sırasıyla en yaygın görülen fenotiplerdir (3). Hastalığın etiyolojisi henüz bilinmemektedir ve karmaşık gen-çevre etkileşimini içeren açıklamalara literatürde sıklıkla rastlanır. Bununla birlikte çeşitli meta analizler MS'te çevresel etkilerin hastalığa yakalanma riskini arttırdığını, genel riskin anlamlı bir kısmının kalıtsal olduğunu ve hastalığın yüzlerce yaygın genetik varyantla ilişkili olabileceğini söylemektedir (1).

Merkezi sinir sistemi için kritik görevleri olan folat ve homosisteinin çok faktörlü bir hastalık olduğu düşünülen MS'in patogenezinde etkili olabileceği düşünülmektedir ve tekrarlayan düzelen MS fenotipine sahip hastalar başta olmak üzere MS hastalarında sağlıklı bireylere oranla düşük folat seviyeleriyle beraber yüksek homosistein seviyelerini bildiren çalışmalar mevcuttur (4-7).

Folat metabolizması üzerinde etkili olabilecek polimorfizmler üzerine yapılmış meta analiz raporuna göre, tek başına etki düzeyi istatistiksel açıdan anlamlı olan genetik varyasyon MTHFR (C677T) gen polimorfizmidir. Ek olarak, MTHFR (C667T) ve MTRR (A66G) gen varyasyonlarının her ikisinin de bulunmasının plazma folat düzeyi ve homosistein düzeyleri üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı etkileri olduğu bildirilmiştir.

Multiple Skleroz'da MTHFR (C677T) gen polimorfizmleri sıklıkla çalışılmıştır ve farklı çalışmalarda çelişen bulgular bulunmaktadır (8-11). Türk popülasyonunda yapılmış çalışmalarda MTHFR (C677T) polimorfizmiyle MS arasında anlamlı ilişki olduğu raporlanmıştır (12,13).

Multiple Skleroz'un gen mekanizmasının araştırılmasına yönelik daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle MS hastalığının patogenezine katkıda bulunabileceğini düşündüğümüz MTR (A66G), MTRR (A66G) ve MTHFR (C667T) gen varyasyonlarının genotip dağılımlarını belirlemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Multiple Skleroz

Multiple Skleroz, merkezi sinir sistemini etkileyen kronik bir hastalıktır. İnflamasyon, demiyelinizasyon ve nörodejenerasyon ile karakterizedir. Sıklıkla görülen semptomları arasında optik nörit, diplopi, duyusal kayıplar, uzuvlardaki güçsüzlükler, yürüyüş ataksi, mesane kontrol kaybı ve bilişsel işlevlerdeki bozukluklar bulunur (14). Artmış lenfosit değerleri ve immün aktivasyon göstergesi olan oligoklonal immünoglobulin bantlar gibi beyin omur ilik sıvısındaki anormallikler hastalık tasını için yardımcı ve ayırt edici faktörlerdir (15).

Patogenezi henüz tam olarak anlaşılmamış olan MS için, dıştan-içe ve içten-dışa olarak adlandırılan, iki teori vardır. Dıştan-içe teori; aktive olmuş periferik bağışıklık hücrelerinin kan beyin bariyerini geçmesiyle merkezi sinir sisteminde inflamatuar, nörödejeneratif, demiyelinizan bir yıkımın başladığını ileri sürer (16). Dıştan içe teoriye göre kan beyin bariyerinin belli bölgelerindeki artan geçirgenlik lenfositlerin merkezi sinir sistemine geçişine olanak tanıyarak aktif lezyon oluşumuna sebep olan periferik bağışıklık tepkisi MS'i başlatır. Sonrasında oluşan lezyonların genişlemesi ve kan beyin bariyeriyle beyin omurilik sıvısı arasına sıkışmış lenfosit aktivitesiyle giderek artan merkezi sinir sistemi bağışıklık tepkisiyle karakterizedir (17).

İçten-dışa teori ise, bilinmeyen bir merkezi sinir sistemi aktivitesi sonucu, otoantijenik miyelin bileşenlerinin serbest kalmasıyla periferik ve merkezi sinir sisteminde inflamatuar yatının ortaya çıktığını ileri sürer (16).

Hastalığın tekrarlayan düzelen tip (RRMS), birincil ilerleyici tip (PPMS), ikincil ilerleyici tip (SPMS), ilerleyici nükseden tip (PRMS) gibi farklı fenotipleri bulunmaktadır. RRMS formu vakaların yüzde 85'inde görülmesiyle en yaygın tipi oluşturur. Atak döneminde semptomlar günler ila haftalar arasında gözlemlenir ve ardından haftalar ila aylar arasındaki iyileşme dönemiyle karakterizedir. Ataklar arasında nörolojik işlevlerde kalıcı kötüleşme genellikle görülmez. SPMS formunda hastalık ataklarla seyrederken, ataklardan bağımsız olarak, artan nörolojik bozulmalar görülür. PPMS formunda hastalığın başlangıcından itibaren sürekli olarak fonksiyonel kayıp görülür ve nüks gerçekleşmez. PRMS formunda ise hastalığın başlangıcından itibaren fonksiyonel kayıp görülmekle beraber üst üste tekrarlayan akut ataklar vardır. Nüksler oluşmaya başladığı evrede PPMS formundan ayrılır (18). Ancak MS'in patogenezine yönelik bazı çalışmalara göre; hastalığın temel biyolojik mekanizmaları farklı

fenotiplerinde değişmez. Hastalıktaki patolojik tablo, epidemiyoloji, genetik etkiler, immünoloji göz önüne alındığında farklı formların, biyolojik mekanizma yönünden, tek bir hastalık olduğu fikri düşünülmektedir. Farklı formların bulunması yaş, cinsiyet, hastalık süresi, genetik yapı, enfeksiyon geçmişi, yaşam tarzı, antijen özgüllüğü gibi diğer biyolojik karıştırıcı faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (19).

Multiple Skleroz, duyusal, bilişsel ve motor işlev bozukluklarına yol açabilmesi yönünden genç yetişkinlerdeki nörolojik sakatlığın önemli nedenlerinden biri sayılmaktadır. Inflamasyon ve demiyelinizasyon merkezi sinir sisteminde doku hasarına neden olur (20). Mikroglia ve makrofajların aktiviteleri hasar için önemli göstergeler sayılmakla birlikte nörotoksisite için de düzenleyici ve katkıda bulucu faktör olarak değerlendirilmektedir. Bu hücrelerin patolojik uyaranlara mı yanıt verdiği yoksa nörotoksisiteyi mi yönlendirdiği hala bilinmemekle beraber, reaktif mikrogliaların varlığı, mikroglia ve makrofajların önemli rolünün olduğu düşüncesini desteklemektedir (21). Beyin atrofisi MS'li hastalarda sağlıklı insanlara göre daha hızlı gelişmektedir ve MS hastalarında uzun vadeli sakatlıkla ilişkilendirilmektedir. Atrofi, çoğunlukla gri madde ve daha az ölçüde beyaz madde atrofisini içerir (22).

Multiple Skleroz'da engelliliğin, nüksle ilişkili kötüleşme ve nüksten bağımsız ilerleme yoluyla olmak üzere kazanıldığı düşünülmektedir. Çeşitli çalışmalar nükslerin sakatlık gelişmesi riskini önemli ölçüde arttırdığını bildirmektedir. Bununla birlikte artan yaşın ve var olan sakatlık durumunun nüks sonrası iyileşme için risk faktörü olduğu ve bu durumun sakatlık düzeyini arttırdığı bildirilmektedir. Veriler, nükslerin hastalığın erken evrelerinde sakatlığın birikmesine katkıda bulunduğunu söylerken; nüksten bağımsız ilerleme hastalığın ileri evrelerinde sakatlık düzeyinin artması için daha önemli bir yordayıcı haline gelmektedir. Hastalığa yönelik tedavilerin sakatlık birikimini geciktirdiği ve özellikle erken evrelerdeki müdahalelerin sakatlık birikimini geciktirmede daha etkili olduğu düşünülmektedir (23).

2.1.1. Multiple Skleroz'un Etiyolojisi

Multiple Skleroz'un etiyolojisinin genetik faktörler, yaş, cinsiyet, ırk, coğrafya, çevresel faktörler, viral enfeksiyonlar, değişen D vitamini düzeyleri, sigara kullanımı gibi faktörlerin henüz bilinmeyen etkileşimlerinden kaynaklandığı yaygın olarak düşünülmektedir. Merkezi sinir sisteminin kronik otoimmün bir hastalığı olan MS, güncel verilere göre kadınlarda erkeklere oranla 2-3 kat daha fazla görülmektedir. Enlem derecesinin yüksek olduğu özellikle

kuzey bölgelerde daha yaygındır. Aynı zamanda yüksek rakımlarda yaygınlığın arttığı bildirilmiştir (24,25).

2.1.2. Multiple Skleroz'un Patogenezi

Multiple Skleroz'da oluşan hasarın öncelikli sebebi merkezi sinir sistemindeki inflamasyondur. İnflamasyonu tetikleyen temel mekanizma hala tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Genetik faktörler, çevresel faktörler ve enfeksiyonların bu inflamasyona sebep olabileceği belirlenmiştir (26).

MS'in patogenezinde, Epstein Barr Virüsü (EBV) enfeksiyonundan sonra gelişen kan beyin bariyerindeki periyodik zayıflama sebebiyle merkezi sinir sistemine geçen ve orada birikebilen antikorların ve oligodentrositlerde biriken alfa kristalin B proteininin aktivitesinin etkileşimine bağlı gelişen yıkım döngüsünün etkili olduğu düşünülmektedir (27).

2.1.3. Multiple Skleroz'da Risk Faktörleri:

Epidemiyolojik çalışmalara göre, MS'te genetik faktörler hastalığa duyarlılığı etkilerken, çevresel faktörlerin hastalığın başlamasında ve seyrinde etkili olduğu düşünülmektedir (24,25).

Hastalığın monozigot ikizlerde dizigot ikizlere göre daha yüksek görülme oranı, akrabalık derecesinin artmasıyla doğru orantılı olarak artan yaygınlık oranları etiyolojideki genetik duyarlılık fikrini desteklemektedir. Bununla beraber ikiz popülasyonuyla yapılan çalışmalarındaki düşük uyum oranları ve göçmen çalışmalarından elde edilen veriler çevresel faktörlerin önemini vurgulamaktadır (28). Aile ve ikiz çalışmalarından elde edilen verilerde, MS hastalarının birinci derece akrabaları arasında 40 kat daha fazla duyarlılık bildirilmiştir (29). Ailesinde MS olan bireylerin risk oranının, MS'li birey ile paylaşılan genetik bilgi miktarıyla orantılı olarak arttığı düşünülmektedir. Birinci derece akrabalardaki bildirilen risk oranları %2-5 arasındayken, ikinci derece akrabalarda %1-2 aralığındadır. Monozigot ikizlerde risk oranının yaklaşık %25 olduğu bildirilmiştir (30).

Multiple Skleroz EBV seronegatif bireylerde oldukça nadir görülür. Yaşamın erken dönemlerinde EBV ile enfekte olanların MS olma riski enfekte olmayanlara göre 10 kat fazla olduğu ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde EBV ile enfekte olanların riski enfekte olmayanlara oranla 2-3 kat fazla olduğu bulunmuştur (31).

Multiple Skleroz'la güneş ışığına maruziyet ve D vitamini metabolizması arasında ilişki olduğuna yönelik görüşler mevcuttur. 6-15 yaşlarında güneş ışığına maruz kalma oranıyla MS olma riski arasında negatif ilişki bulunmuştur (32). Dolaşımdaki D vitamini düzeylerinin yüksek olması düşük MS riskiyle ilişkilendirilmiştir ve takviye olarak D vitaminleriyle de MS riski arasında ters orantı bulunmuştur (33).

Mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte, sigara kullanımı ile MS riski arasında ilişki olduğu düşünülmektedir. Bir çalışma sonuçlarına göre sigara içenler arasında MS riski neredeyse iki katı oranında artmaktadır (34).

2.1.4. Multiple Skleroz'da Ölüm Oranları:

Kohort kayıtlarından elde edilen verilere göre MS hastalarının %50'sinden fazlası hastalıkla doğrudan ilişkili nedenlerden ölmektedir. Hastaların yaşam beklentisi sağlıklı popülasyona oranla 7-14 yıl daha azdır ve bir çalışmada üç kat yüksek ölüm oranı bulunmuştur. Tedavilerle beraber sağ kalım oranlarında iyileşme olsa da hastalığın ilerleyen evreleriyle beraber ilerleyen engellilik hala sorun oluşturmaktadır (35). MS'in ölümün ana nedeni olarak kayıtlara geçme durumu 'Genişletilmiş Sakatlık Durumu Ölçeğinin' son adımına ulaşıldığını gösterir (36).

Hastalığın başlangıcından itibaren ortalama sağ kalım süresi 41 yıl olarak belirlenmiştir. MS'in farklı formlarının yaşam süreleri arasında değişiklik olduğunu bildiren çalışmalar vardır. RRMS'li hastalar PPMS'li hastalara göre yaşam süreleri 7 yıl daha fazladır ve PPMS'te ölüm riskinin RRMS'ye kıyasla iki kat fazla olduğu bulunmuştur (37).

2.1.5. Multiple Skleroruz'un Epidemiyolojisi:

2020 yılı verilerine göre dünya çapında 2,8 milyon MS vakası bulunmaktadır. Yaygınlığın 2013'ten bu yana küresel olarak arttığı bildirilmiştir. Vaka bildirimi yapan ülkelerin birleştirilmiş verilerine göre 2013 yılından 2020 yılına kadar olan dönemdeki yaygınlık artışının oranı %50'nin üzerinde olduğu görülmektedir (38).

Genellikle 20-40 yaşlarında başlayan hastalığın ortalama yaşı 32'dir. Dünya genelinde kadınların MS riski erkeklerden 2-3 kat fazlayken bazı ülkelerde bu oran 4 kata kadar çıkmaktadır. Pediyatrik başlangıçlı MS vakalarının da önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (39).

Hastaların sadece %10'unun 18 yaşından önce ilk klinik belirtiyi yaşadığı bildirilirken, son epidemiyolojik veriler ışığında hastalığın 50 yaşından sonra görülme sıklığı artmıştır.

Bunun prognozun iyileşmesinden ve hastalıkla ilgili ölüm oranının azalmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir, dolayısıyla prevalans ileri yaşlara kaymıştır. Bu verilere göre en yaygın prevalans tahminleri yaşamın 6. 10 yılındadır. Genellikle RRMS formunun görülme sıklığındaki artış PPMS formundan fazladır (40).

Bölgesel insidans çeşitliliği, yani bir yıl içinde bir bölgedeki yüz bin kişi başına tanı alan kişi sayısı, genellikle bölgelerdeki yaygınlık modeline benzer desenler çizer. Avrupada 6,8 insidans oranı ile bildirilen en yüksek orana sahip bölgedir. Avrupayı 4,8 ile Amerika takip eder. Afrika ve Güneydoğu Asya 0,4 oranıyla bildirilen en düşük insidans oranına sahip olan bölgelerdir. Birleştirilmiş insidans oranı 100.000 kişi/yıl başına 2,1 olarak hesaplanmıştır (39).

2.1.6. Türkiyede Multiple Skleroz'un Epidemiyolojisi:

Multiple Skleroz'da, küresel ölçekte, yıllar içinde artan prevalans ve insidans oranları bildirilmekteyken Türkiyede bu konuda yeterli çalışma mevcut değildir. Türkiyede iki kırsal bölge seçilerek yapılmış olan bir çalışma sonucu elde edilen 47,9/100000'lik toplam prevalans sonucu, önceki yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda belirlenen Türkiye ortalaması ile uyumludur dolayısıyla 10 yıllık süreçte önemli bir artış görülmediğini bildirmektedir. Aynı çalışmada yıllık insidans oranı 3,4/100000 olarak tespit edildi. Son 10 yılda 2,3'lük kadın erkek oranında da değişme tespit edilemedi (41).

2.2. Multiple Skleroz'da Genetik Yatkınlık Faktörü

Uluslararası genetik konsorsiyumunun verilerine göre MS riski 233 insan genomik varyasyonu ile ilişkilidir. Genetik varyasyonlar tek başlarına MS tahminleri için yeterli olmasa da çevresel faktörlerin etkilerinin daha iyi anlaşılması durumunda, hastalığa yakalanma risk tahmini için daha tutarlı sonuçlar elde etmeye yardımcı olacaktır (42).

2.2.1. Folat ve Homosistein Mekanizmaları

Homosistein metiyonin mekanizmasının ürünüdür ve döngü içerisinde sistein ya da metiyonine metillenir. Makrofajların aktivasyonunda ve hücre hasarında etkisi olduğu düşünülmektedir.

Çeşitli çalışmalarda MS hastalarının dolaşımında yüksek serum homosistein düzeyleri olduğu bildirilmiştir ve bu çalışmalarda yüksek homosistein düzeyine ek olarak, sağlıklı bireylere oranla MS hastalarında, daha düşük B12 ve folat seviyelerine vurgu yapılmıştır (43,44). Farklı çalışmalar MS hastalarının homosistein ve folat düzeylerine dair tartışmalı

bulgular içerir (45). Bu çalışmaların da dahil edildiği meta analiz sonucuna göre MS'li hastaların homosistein düzeyleri ile sağlıklı bireylerin homosistein düzeyleri arasında anlamlı farklılık varken, folat düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (46).

Multiple Skleroz hastalarında sağlıklı bireylere oranlar artmış serum homosistein düzeyleri görülmüştür. Bu fark özellikle tekrarlayan düzelen MS hastalarında diğer formlara göre daha yüksek bulunmuştur (47).

2.2.2. MTR (A2756G) Geni

Protein kodlama genlerinden biridir ve MTR (A2756G) geni kromozom 1q43 üzerinde lokalizedir. MTR (A2756G), kobalamin bağımlı metiyonun sentaz enziminin kodlanmasında görev alır. Metiyonin sentaz enzimi, metiyonin biyosentezinde son aşama için katalizör görevi görür. Bu işlemde homosistein metiyonine katalize edilir. Metiyonin sentaz aktivitesindeki olası bozulmaların plazma homosistein seviyesini artması beklenir (48). Metiyonin sentazın fonksiyonunu sorunsuz bir şekilde yerine getirebilmesi için metiyonin sentaz redüktaz enzimine gereksinim vardır (49).

2.2.3. MTRR (A66G) Geni

Protein kodlamasında görev alır ve MTRR (A66G) geni kromozom 5 (5p15.2-p15.3) üzerinde lokalizedir. MTRR (A66G) geni, metiyonin sentaz redüktaz enziminin üretimi için gerekli kodları taşır. Metiyonin sentaz redüktaz enzimi ise aktif olmayan metiyonin sentaz enzimini tekrar aktifleştirerek ve fonksiyonu yerine getirebilmesini sağlar (50). MTRR (A66G), kobalamini aktif bir formda tutmada kritik bir rol oynar ve dolayısıyla serum homositein düzeylerinde önemli bir belirleyicidir (51).

2.2.4. MTHFR (C677T) Geni

Protein kodlayan genlerden biridir ve MTHFR (C677T) geni 11 eksomdan oluşan 1p36.3 kromozomu üzerinde lokalizedir. MTHFR (C677T) gen varyasyonu 222. pozisyondaki alenin/valin aminoasit değişimiyle karakterize edilir. MTHFR (C677T) geni, metilen tetrahidrofolat redüktaz enzimini kodlar. Metilen tetrahidrofolat enzimi homosistein döngüsünde, homosisteinin metiyonine remetilasyon işleminde 5,10-metilentetrahidrofolatın 5-metiltetrahidrofolata dönüşümünü için katalizör görevi görür. 5-metiltetrahidrofolat homosisteinin metiyonine dönüşümü süreci için gerekli bir folat formudur. MTHFR (C677T)

genindeki olası mutasyonlar metilentetrahidrofolat redüktaz enzimi eksikliği ile sonuçlanacaktır. Bu da homosistein ve folat döngülerinin düzgün işleyebilmesi noktasında önemlidir (52).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

“Multiple Skleroz’da Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) ve Metilenterahidrofolat Redüktaz (C677T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması” isimli tezimiz için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’na başvuru yapıldı.

Betül Çevik ve arkadaşlarının “Association of Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene C677T Polymorphism With Multiple Sclerosis in Turkish Patients” adlı çalışması referans alınarak, %5 hata payı ve %95 power dikkate alındığında, 101 multiple skleroz tanısı almış kişi ve 101 multiple skleroz tanısı almamış kişi, kontrol grubu, olmak üzere toplamda 202 kişinin çalışmaya dahil edilmesi gerektiği hesaplandı.

“Multiple Skleroz’da Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) ve Metilenterahidrofolat Redüktaz (C677T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması” isimli tezimiz için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’na başvuru yapıldı.” isimli tezimiz için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 04.11.2024 tarihli toplantısı sonucu alınan, 18/31 sayılı ve TÜTF-GOBAEK 2023/118 kodlu karar sonucu çalışmamıza onay verildi (EK 1).

“Multiple Skleroz’da Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) ve Metilenterahidrofolat Redüktaz (C677T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması” isimli tezimiz, 2023/146 proje numarası ile Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) Birimi tarafından destek aldı (EK 2).

Çalışmada, Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Nöroloji Polikliniğine ve servisine başvurarak yeni MS tanısı alan ve rutin kontrole gelerek daha önce MS tanısı almış olan hastalardan ve Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Poliklinikleri ve servislerine başvurmuş ve yapılan tetkikler sonucunda MS saptanmamış kişilerden, çalışmaya dahil edilmeme kriterleri göz önünde bulundurularak, rutin tetkikler için alınmış olan periferik venöz kan numuneleri kullanıldı. Çalışmaya katılan hasta ve kontrol gruplarındaki kişilerden bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alındı. Çalışma, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesinde Biyofizik Anabilimdalı ve Nöroloji Anabilim Dallarında yapıldı
.

Hasta grubu, Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Nöroloji Polikliniği'ne başvurarak yeni MS tanısı alan, daha öncesinde MS tanısı almış olup rutin kontrole gelen hastalardan minimum 18 yaşını doldurmuş olan kadın ve erkeklerden çalışmaya katılmak için gönüllü olanlardan seçildi.

Kontrol grubu için ise, Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezine rutin kontrolleri için başvurmuş olup, 18 yaşını doldurmuş ve MS tanısı almamış olan kadın ve erkeklerden gönüllü olanlar seçildi.

18 yaşını doldurmamış olan kadın ve erkekler, hamileler ve emziren kadınlar, daha önce kanser öyküsü olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Multiple Skleroz hastalarına ve kontrol grubunu oluşturan sağlıklı popülasyona, çalışma hakkında bilgiler verilerek, bilgilendirilmiş gönüllü olur formları imzalatıldı (EK 3,4).

Çalışma, 108 MS hastasının oluşturduğu hasta grubu ve 106 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubu olmak üzere toplam 213 kişi ile gerçekleştirildi. Hasta grubundan 6, kontrol grubundan 4 kişinin kanları pıhtılaşma olduğu için çalışmaya dahil edilmedi ve çalışma toplamda 204 kişiyle gerçekleştirildi.

3.1.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Kan Numuneleri

Multiple Skleroz tanısı olan hasta grubu ve MS tanısı almamış olan kontrol gruplarındaki kişilerin, rutin tahlilleri için alınmış olan kan numuneleri etilendiamintetraasetik asitli (EDTA) vakumlu tüplere aktarılarak Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı laboratuvarında çalışıldı. EDTA'lı tüplere aktarılmış olan kanlarla MTR (A2756G), MTRR (A66G) ve MHTFR (C677T) gen varyasyonları analizleri gerçekleştirildi. MS hasta grubu ile sağlıklı kontrol gruplarının deoksiriboz nükleik asitleri (DNA), EDTA'lı tüplere alınmış kan numunelerinden, Invitrogen™ PureLink™ Genomic DNA Kit (Katalog No:K182002) izolasyon kiti kullanılarak saflaştırıldı.

İzolasyon işlemi yapılan DNA'lardan elde edilen polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ürünlerinin ve kesim ürünlerinin jel elektroforezi ile yürütülmesi işlemi için 10X TEB konsantrasyonlu tampon çözelti hazırlandı. Bu çözeltiyi hazırlamak için; 108 gr tris, 55 gr borik asit, 7,44 gr EDTA 900 ml distile edilmiş suda çözdürüldü. Sonraki aşamada % 0,5 yoğunluklu TEB tamponu için, 950 ml'lik distile suya 50 ml 'lik 10xTEB tamponu ekleyip karıştırıldı. Jel

elektroforez tankına 300 ml % 0,5'lik TEB tamponu konuldu ve tank elektroforez işlemine hazırlandı.

Saflaştırılmış olan DNA'ların saflığı kontrol edildi.

MTR (A2756G), MTRR (A66G) ve MHTFR (C677T) genlerindeki varyasyonlarının belirlenebilmesi adına gerekli olan PZR yapılmadan önce, çalışılacak bölgelere özgü primerler kullanıldı ve magnezyum klorür titrasyonuyla gen bölgeleri için uygun miktarın 2,5 mM olduğu tespit edildi.

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucu oluşan ürünler etidyum bromür kullanılarak hazırlanmış % 2'lik agaroz jele yüklendi ve ürünler 110 voltta yürütüldükten sonra ultraviyole (UV) ışık kullanılarak gözlemlendi. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFUP) yöntemi kullanılarak tüm gen varyasyonları için elde edilen PZR ürünlerine, çalışılan bölgelere özgü restriksiyon enzimleri eklenerek 3 saat boyunca 37°C'de kesime konuldu. Kesim sonrasında elde edilen ürünler etilyum bromür kullanılarak hazırlanmış % 2,5'luk agaroz jelde 110 voltta yürütüldü ve UV ışık kullanılarak genotipleri tespit edildi.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler

50 bç DNA marker (Fermantes)

Agaroz (Sigma)

Borik Asit (Sigma)

dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Fermantes)

Etilendiamin Tetraasetik Asit EDTA (Sigma)

Etidyum Bromür (Invitrogen)

Primerler (Probesynthesis)

Purelink Genomic DNA Kit (Invitrogen)

Taq DNA polimeraz seti (Thermo Scientific)

Trisma Base (Sigma)

3.1.3. Çözeltiler

10X Tris Borik Asit EDTA (TEB) Çözeltisi

3.1.4. DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler:

Elution Buffer

Etanol

Proteinaz K: 20 mg/ml

PureLink Genomic Lysis/Binding Buffer

RNAse A

Wash Buffer 1

Wash Buffer 2

3.1.5. Kullanılan Cihazlar

Agaroz elektroforez tankı (MINICELL PRIMO EC 320, Cleaver Scientific)

Buzdolabı No Frost (Beko)

Derin Dondurucu (Beko)

Güç Kaynağı (EC-105, Cleaver Scientific MP-300V)

Etüv (Haraeus)

Manyetik Karıştırıcı (Nüve)

Mikrodalga fırın (Samsung)

Otoklav (Nüve)

Otomatik Mikro Pipetler (Socorex, Thermo Scientific)

Santrifüj (Hettich EBA)

Terazi (Sartorius)

Vorteks (VELP Scientifica)

3.2. Yöntemler

3.2.1. Deoksiribo Nükleik Asit İzolasyonu

Deoksiribo nükleik asit molekülü maksimum absorbansı 260 nm'de sağlar. DNA konsantrasyonunu tespit etmek amacıyla 260 nm gereklidir (53).

DNA molekülü için 50 µg/ml'ye 1 optik yoğunluğa eştir ve DNA miktarları DNA (µg/ml) = 260 nm'deki optik yoğunluğu (OD) x sulandırma oranı x katsayı (DNA için 50) formülü ile belirlenir (54).

DNA izolasyon protokolü:

200 µl kan numunesine 20µl proteinaz K ilave edildi.

Numuneye 20µl RNAse A ilave edilerek, vortekslendi ve 2 dakika bekletildi.

Numuneye 200µl PureLink Genomic Lysis/Binding Buffer ilave edildi ve vorteksleme tekrar edildi.

Numune 55ºC'de 10 dakika bekletildi.

Numuneye 200µl etonol ilave edildi ve 5 saniye vorteksleme işlemi yapıldı.

Numune kolona alındı.

10000 g'de 1 dakika santrifüj işlemi yapıldı.

500µl Wash Buffer 1 ilave edildi ve 10000 g'de 1 dakika santrifüj işlemi tekrar yapıldı.

500µl Wash Buffer 2 ilave edildi ve 10000 g'de 3 dakika santrifüj işlemi yapıldı.

Kolon steril ependorfun içine kondu.

200µl Elution Buffer ilave edildi ve 1 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

En yüksek hızda 10000 g'de 1 dakika santrifüj işlemi yapıldı.

Bu işlemlerin sonucunda saflaştırılmış DNA elde edilmiş oldu.

3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

1985 yılında Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki tarafından geliştirilmiş olan polimeraz zincir reaksiyonu methodu, DNA'nın invitro koşullarda çoğaltılmasına olanak tanıyan bir yöntemdir (55).

Polimeraz zincir reaksiyonunda, kalıp DNA, tampon solüsyonu, dNTP, primerler, Taq DNA polimeraz enzimi ve magnezyum klorür karışımından oluşan bir çözelti kullanılır.

PZR temelde üç adımdan oluşur ve bu üç adım çalışılan bölgeye özgü olarak farklı sayılarda ve döngüler halinde tekrarlanır.

İlk adım olan denatürasyonda 90-95°C arası sıcaklıkta DNA'nın çift sarmalı açılarak tek sarmallar oluşur. İkinci adımda 50-70°C sıcaklıkta primerler hedef DNA'ya bağlanır. Son adımda 70-75°C sıcaklıkta, magnezyum iyonları ve DNA polimerazın da tepkimede görev almasıyla, nükleotidler zincire eklenerek DNA sentezi ya da primer uzaması gerçekleşir (56).

Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan primer dizileri:

MTR (A2756G) gen varyasyonu için;

Forward: 5'-AGG AAA TCA TGG AAG AAT ATG A-3'

Reverse: 5'-TAC CAC TTA CCT TGA GAG AC-3' primer çiftleri

MTRR (A66G) gen varyasyonu için;

Forward: 5'-GCAAAGGCCATCGCAGAAGACAT-3'

Reverse: 5'-GTGAAGATCTGCAGAAAATCCATGTA-3' primer çiftleri

MTHFR (C677T) gen varyasyonu için;

Forward: 5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3'

Reverse: 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3 primer çiftleri

Polimeraz zincir reaksiyonu için hazırlanan karışımlar:

1x PZR Tamponu (Buffer)

2,5 mM MgCl2

1 nmol primer Forward

1 nmol primer Reverse

0,2 mM dNTP

1,25 ünite Taq DNA polimeraz dH_2O

50 nanogram izole edilmiş DNA

Polimeraz zincir reaksiyonunun koşulları:

MTR (A2756G) gen varyasyonu için;

35 döngü olmak üzere,

Başlangıç: 95°C'de 5 dakika

94°C'de 30 saniye

50°C'de 45 saniye

72°C'de 30 saniye

Sonlanma: 72°C'de 1 dakika

MTRR (A66G) gen varyasyonu için;

35 döngü olmak üzere,

Başlangıç: 95°C'de 5 dakika

94°C'de 30 saniye

56°C'de 45 saniye

72°C'de 45 saniye

Sonlanma: 72°C'de 3 dakika

MTHFR (C677T) gen varyasyonu için;

30 döngü olmak üzere,

Başlangıç: 94°C'de 5 dakika

94°C'de 30 saniye

62°C'de 30 saniye

72°C'de 30 saniye

Sonlanma: 72°C'de 5 dakika

3.2.3. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi Yöntemi

Kısa DNA dizilerini spesifik olarak tanıyan ve DNA dizilerine yakın bölgelerden ya da bu diziler içerisindeki spesifik bölgelerden çift yönlü olarak DNA'yı kesen enzimler restriksiyon enzimleri olarak adlandırılırlar (57). Restriksiyon enzimi keseceği DNA'nın 4-8 nükleotitlik kısmını restriksiyon noktası olarak tanımaktadır (58).

MTR (A2756G) gen varyasyonu için restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi yöntemi:

Her bir PZR ürünü HaeIII restriksiyon enzimi ile kesildi ve varyasyonlar incelendi.

AA genotipi 66 baz çift, AG genotipi 66, 37 ve 29 baz çift, GG genotipi 37 ve 29 baz çift.

MTRR (A66G) gen varyasyonu için restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi yöntemi:

Her bir PZR ürünü NdeI restriksiyon enzimi ile kesildi ve varyasyonlar incelendi.

AA genotipi 44 ve 22 baz çift, AG genotipi 66, 44 ve 22, GG genotipi 66 baz çift.

MTHFR (C677T) gen varyasyonu için restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi yöntemi:

Her bir PZR ürünü Hinf I restriksiyon enzimi ile kesildi ve varyasyonlar incelendi.

CC genotipi 198 baz çift, CT genotipi 198, 175 ve 23 baz çift, TT genotipi 175 ve 23 baz çift.

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızdaki veriler SPSS 20.0 (Statistics Package of Social Science) (Lisans No:10240642) istatistik programı kullanılarak analiz edildi. MTR (A2756G), MTRR (A66G) ve MHTFR (C677T) gen varyasyonlarındaki genotip dağılımlarının, MS tanısı alan hasta ile MS tanısı almamış kontrol grupları arasında, Hardy Weinberg dağılımına uygunluğu test edildi ve Mann Whitney U testi kullanılarak analiz yapıldı. Gruplar arası yaş analizi için Student t testi kullanıldı. Gruplar arası diabetes mellitus, hipertansiyon, kolesterol, kalp hastalığı, ailede MS öyküsü, ailede nörodejenarafif hastalık öyküsü ve sigara kullanımı karşılaştırılmasında Ki-kare (Pearson, Yates, Fisher testlerinden verilere göre seçileni) testi ile istatistiksel analizler yapıldı. Elde edilen sonuçlar sayı (ve yüzde) ya da ortalama ± standart sapma ile ifade edildi. İstatistiksel olarak anlamlılık değeri $p<0,05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

Multiple Skleroz tanısına sahip olan hasta grubu ve MS tanısı almamış kontrol grubunun yaş ortalamaları Student-t testi kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.1. Multiple Skleroz tanısı alan hasta ve kontrol gruplarının yaşları

Hasta ve kontrol grupları	Hasta grubu (n=102)	Kontrol grubu (n=102)	p*
Yaş	45,82 ± 12,538	46,53 ± 11,833	0,680

*Student t testi

Multiple Skleroz tanılı hasta grubu ve MS tanısı almayan kontrol grubunun diabetes mellitus, hipertansiyon, kolesterol, kalp hastalıkları, ailelerinde MS hastalığı bulunması, ailede nörodejenatif hastalık bulunması ve sigara kullanımları Ki kare testi yapılarak karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmalar yukarıda belirtilen sıraya uygun olacak şekilde Tablo 4.2., 4.3., 4.4., 4.5., 4.6., 4.7., 4.8.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Hasta ve kontrol gruplarının diabetes mellitus açısından karşılaştırılması

Diyabetes mellitus	Hasta grubu (n=102)	Kontrol grubu (n=102)	Toplam (n=204)	p*
Var	11 (% 45,8)	13 (% 54,2)	24 (% 100)	0,828
Yok	91 (% 50,6)	89 (% 49,4)	180 (% 100)	
Toplam	102 (% 50)	102 (% 50)	204 (% 100)	

*Ki-kare testi

Tablo 4.3. Hasta ve kontrol gruplarının hipertansiyon açısından karşılaştırılması

Hipertansiyon	Hasta grubu (n=110)	Kontrol grubu (n=110)	Toplam (n=220)	p*
Var	18 (% 52,9)	16 (% 47,1)	34 (% 100)	0,851
Yok	84 (% 49,4)	86 (% 50,6)	170 (% 100)	
Toplam	102 (% 50)	102 (% 50)	204 (% 100)	

*Ki-kare testi

Tablo 4.4. Hasta ve kontrol gruplarının kolesterol açısından karşılaştırılması

Kolesterol	Hasta grubu (n=102)	Kontrol grubu (n=102)	Toplam (n=204)	p*
Var	13 (% 48,1)	14 (% 51,9)	27 (% 100)	1,000
Yok	89 (% 50,1)	88 (% 49,7)	177 (% 100)	
Toplam	104 (% 50)	104 (% 50)	204 (% 100)	

*Ki-kare testi

Tablo 4.5. Hasta ve kontrol gruplarının kalp hastalığı açısından karşılaştırılması

Kalp hastalığı	Hasta grubu (n=102)	Kontrol grubu (n=102)	Toplam (n=204)	p*
Var	13 (% 56,5)	10 (% 43,5)	23 (% 100)	0,658
Yok	89 (% 49,2)	92 (% 50,8)	181 (% 100)	
Toplam	102 (% 50)	102 (% 50)	204 (% 100)	

*Ki-kare testi

Tablo 4.6. Hasta ve kontrol gruplarının ailede MS hastalığı açısından karşılaştırılması

Ailede MS	Hasta grubu (n=102)	Kontrol grubu (n=102)	Toplam (n=204)	p*
Var	8 (% 100,0)	0 (% 0,0)	8 (% 100)	**0,007***
Yok	94 (% 48,0)	102 (% 52,0)	196 (% 100)	
Toplam	102 (% 50)	102 (% 50)	204 (% 100)	

MS: Multiple Sklerozis

*Ki-kare testi

Tablo 4.7. Hasta ve kontrol gruplarının ailede nörodejeneratif hastalık açısından karşılaştırılması

Ailede nörodejeneratif hastalık	Hasta grubu (n=102)	Kontrol grubu (n=102)	Toplam (n=204)	p*
Var	17 (% 56,7)	13 (% 43,3)	30 (% 100)	0,553
Yok	85 (% 83,3)	89 (% 87,3)	174 (% 100)	
Toplam	102 (% 50)	102 (% 50)	204 (% 100)	

*Ki-kare testi

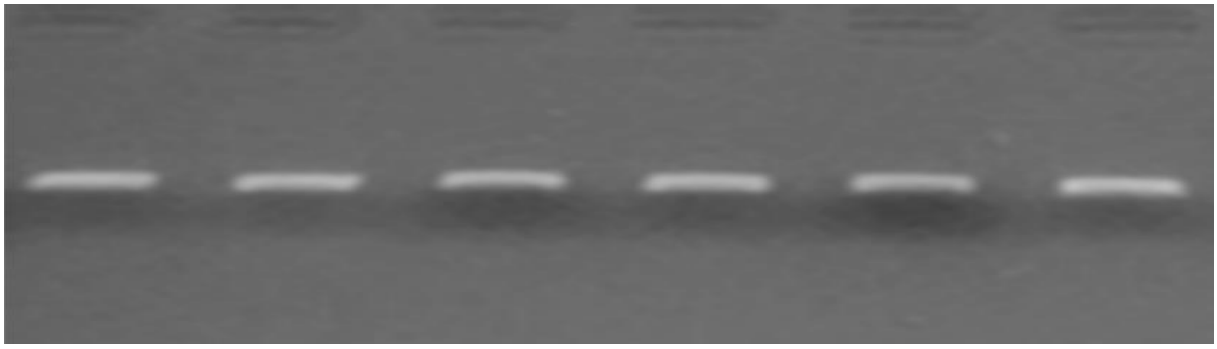
Tablo 4.8. Hasta ve kontrol gruplarının sigara kullanımı açısından karşılaştırılması

Sigara kullanımı	Hasta grubu (n=102)	Kontrol grubu (n=102)	Toplam (n=204)	p*
Var	37 (% 56,1)	29 (% 43,9)	66 (% 100)	0,231
Yok	65 (% 47,1)	73 (% 52,9)	138 (% 100)	
Toplam	102 (% 50)	102 (% 50)	204 (% 100)	

*Ki-kare testi

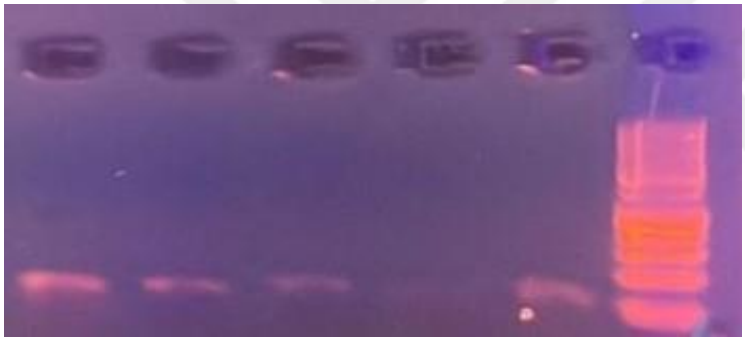
DNA izolasyonu

Hasta ve kontrol gruplarının DNA'ları Invitrogen izolasyon kitiyle saflaştırıldı. Saflaştırılan DNA örnekleri %0,8'lik agaroz jelde 110 voltta elektroforez ile yürütüldü (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Hasta ve kontrol gruplarının DNA örneklerinin, %0,8'lik agaroz jelin UV'deki görüntüsü

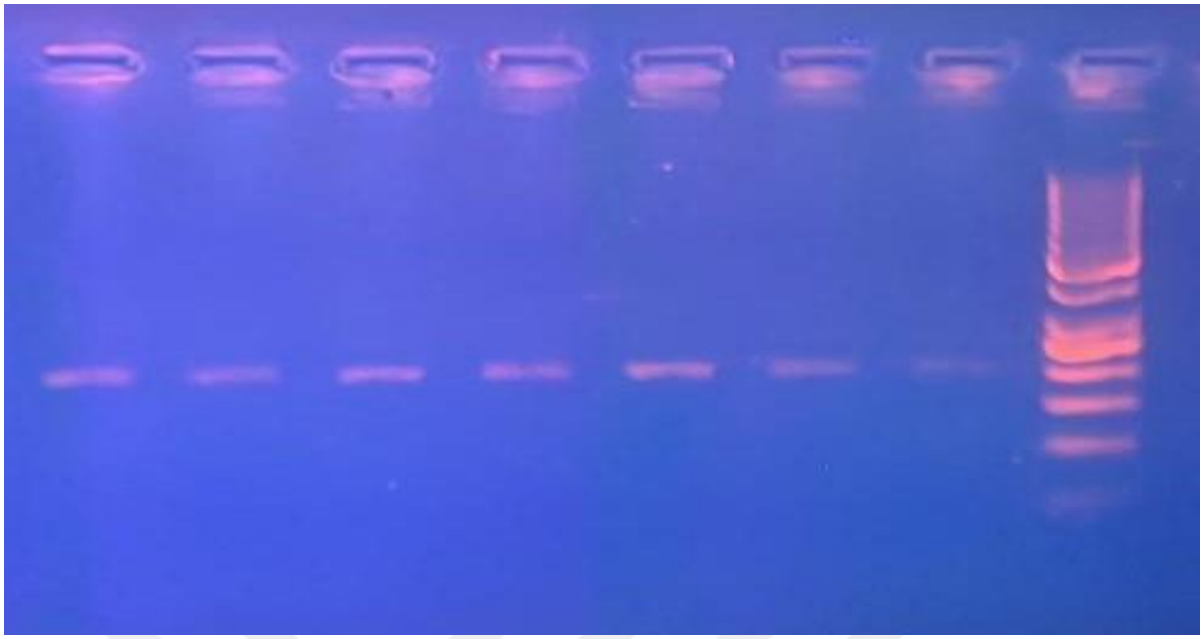
MTR (A2756G), MTRR (A66G), MTHFR (C677T) gen varyasyonlarına özgü primerler kullanılarak her bir bölgenin PZR koşularına göre çoğaltıldı (Şekil 4.2., 4.3., 4.4.).



Şekil 4.2. MTR (A2756G) gen varyasyonu için hasta ve kontrol gruplarının PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jelin UV'deki görüntüsü (66 baz çift)

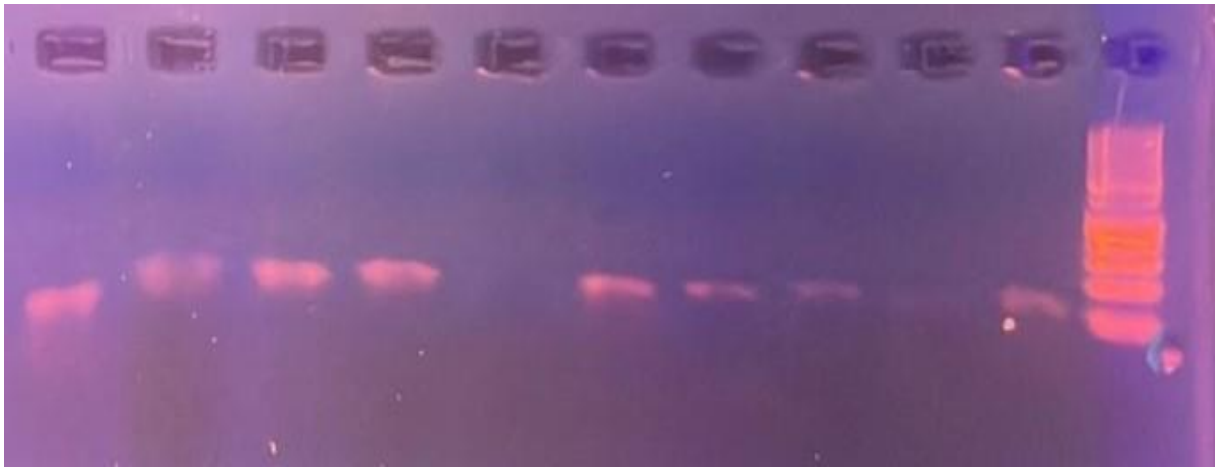


Şekil 4.3. MTRR (A66G) gen varyasyonu için hasta ve kontrol gruplarının PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jelin UV'deki görüntüsü (66 baz çift)

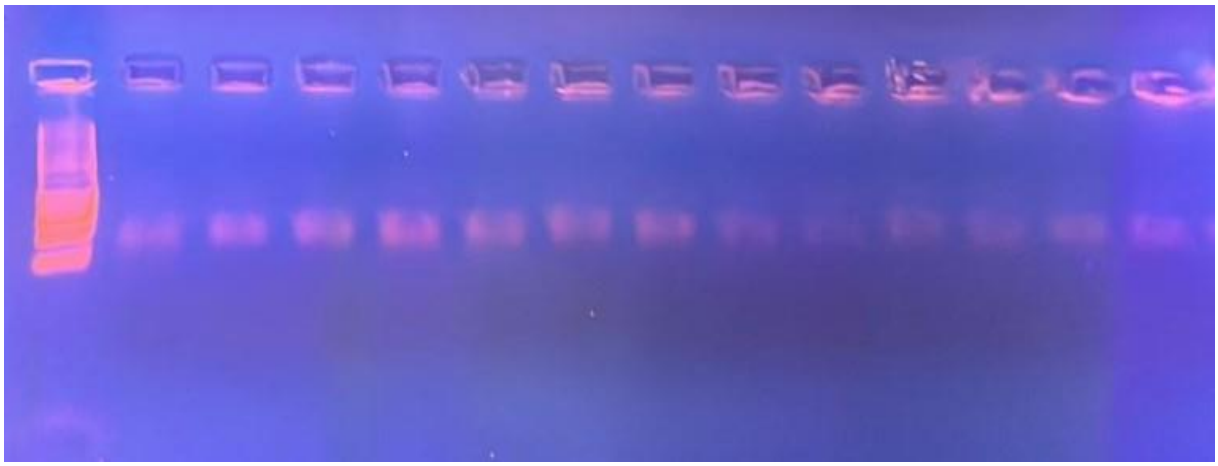


Şekil 4.4. MTHFR (C677T) gen varyasyonu için hasta ve kontrol gruplarının PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jelin UV'deki görüntüsü (198 baz çift)

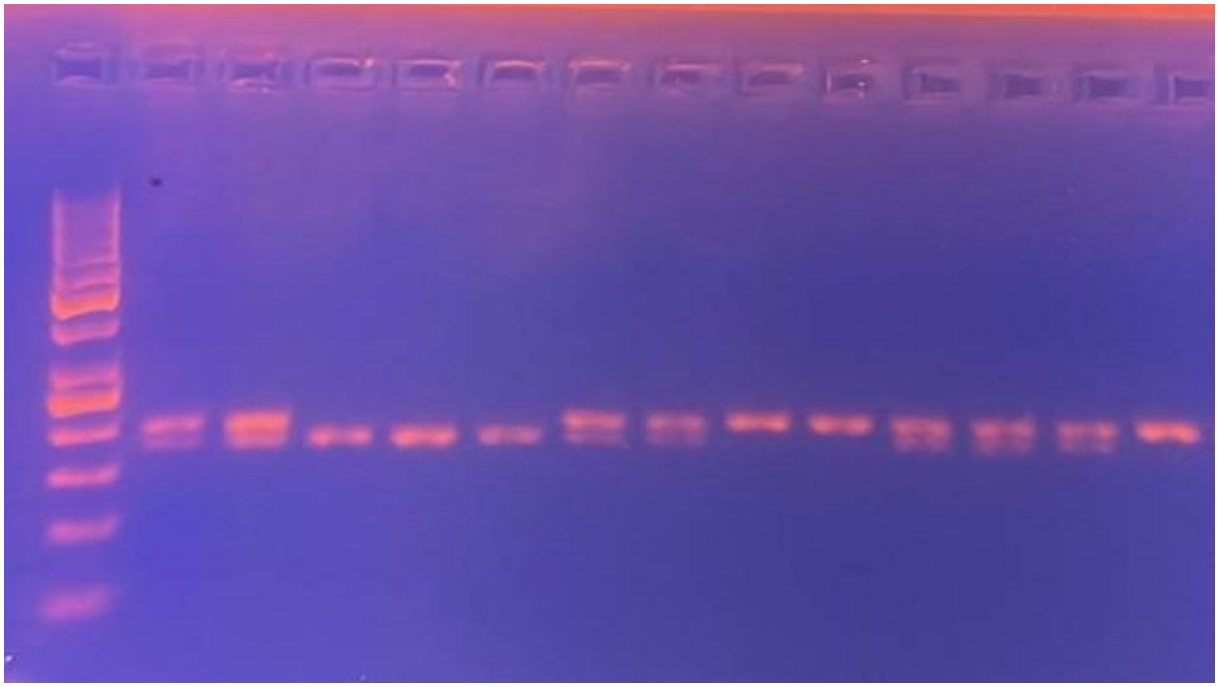
MTR (A2756G), MTRR (A66G), MTHFR (C677T) gen varyasyonlarının PZR Yöntemi sonucu elde edilen ürünler ilgili bölgeler için gerekli olan restriksiyon enzimleri ile 37 °C'de sıcaklıkta 3 saat bekletildi. Daha sonra ürünler etidyum bromür ile boyanarak % 2,5'luk agaroz jellere yüklenerek, elektroforez içerisinde yürütülüp varyasyonlar saptandı ve UV ışık altında görüntülendi (Şekil 4.5., 4.6., 4.7.).



Şekil 4.5. MTR (A2756G) gen varyasyonunun hasta ve kontrol gruplarının kesim ürünlerinin %2,5'luk agaroz jelin UV'deki görüntüsü



Şekil 4.6. MTRR (A66G) gen varyasyonunun hasta ve kontrol gruplarının kesim ürünlerinin %2,5'luk agaroz jelin UV'deki görüntüsü



Şekil 4.7. MTHFR (C677T) gen varyasyonunun hasta ve kontrol gruplarının kesim ürünlerinin %2,5'luk agaroz jelin UV'deki görüntüsü

4.1. MTR (A2756G) Gen Varyasyonu İçin Genotip Dağılımları

İstatistiksel analizden elde edilen verilere göre, MTR (A2756G) gen varyasyonunun genotip dağılımlarına bakıldığında; MS tanılı hasta grubunda AA genotipinin 51 (% 52,0) hasta, AG genotipinin 36 (% 48,0) hasta ve GG genotipinin 15 (% 48,4) hasta bireyde görüldüğü bulunmuştur. Kontrol grubunda ise, AA genotipinin 47 (%48,0) kişi, AG genotipinin 39 (% 52,0) kişi ve GG genotipinin 16 (% 51,6) kişide görüldüğü tespit edilmiştir. MS tanılı hasta grubu ile MS tanısı olmayan kontrol grubunun AA, AG ve GG genotipleri karşılaştırıldığında

anlamlı bir fark bulunamamıştır. Mann Whitney U testi kullanılarak yapılan, MS tanılı hasta grubu ve MS tanısı olmayan kontrol grubu karşılaştırılımasında MTR (A2756G) gen varyasyonunda genotipler üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamamıştır (p=0,854), (Tablo 4.9.).

Tablo 4.9. Hasta ve kontrol grupları arasında MTR (A2756G) gen varyasyonunun genotip dağılımları

			Hasta grubu (n=102)	**Kontrol grubu (n=102)**	**Toplam (n=204)**	**p***
MTR (A2756G)	AA	n	51	47	98	0,854
		MTR (A2756G) içinde	% 52,0	% 48,0	% 100	
		% grup içinde	% 50,0	% 46,1	% 48,0	
	AG	n	36	39	75	
		MTR (A2756G) içinde	% 48,0	% 52,0	% 100	
		% grup içinde	% 35,3	% 38,2	% 36,8	
	GG	n	15	16	31	
		MTR (A2756G) içinde	% 48,4	% 51,6	% 100	
		% grup içinde	% 14,7	% 15,7	% 53,2	
Toplam		n	102	102	204	
		MTR (A2756G) içinde	% 50	% 50	% 100	
		% grup içinde	% 100	% 100	%100	

A: Adenin; **G**: Guanin
*Ki-kare testi.

MTR (A2756G) gen varyasyonu için istatistiksel olarak Hardy-Weinberg Dağılımı uygulanarak bulundu (Tablo 4.10., 4.11.).

Tablo 4.10. Hasta grubunun alel dağılımı

Hasta Alel Dağılımı	**A**	**G**
n=204	138	66
Frekans	0,6765	0,3235
HW p*	0,0682	

A: Adenin; **G**: Guanin
Hardy-Weinberg

Tablo 4.11. Kontrol grubunun alel dağılımı

Kontrol Alel Dağılımı	**A**	**G**
n=204	133	71
Frekans	0,6520	0,3480
HW p*	0,1265	

A: Adenin; **G**: Guanin
Hardy-Weinberg

4.2. MTRR (A66G) Gen Varyasyonu İçin Genotip Dağılımları

İstatistiksel analizden elde edilen verilere göre, MTRR (A66G) gen varyasyonunun genotip dağılımlarına bakıldığında; MS tanılı hasta grubunda AA genotipinin 45 (% 62,5) hasta, AG genotipinin 36 (% 38,3) hasta ve GG genotipinin 21 (% 55,3) hasta bireyde görüldüğü bulunmuştur. Kontrol grubunda ise, AA genotipinin 27 (%37,5) kişi, AG genotipinin 58 (% 61,7) kişi ve GG genotipinin 17 (% 44,7) kişide görüldüğü tespit edilmiştir. MS tanılı hasta grubu ile MS tanısı olmayan kontrol grubunun AA, AG ve GG genotipleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmuştur. Mann Whitney U testi kullanılarak yapılan, MS tanılı hasta grubu ve MS tanısı olmayan kontrol grubu karşılaştırılmasında MTRR (A66G) gen varyasyonunda genotipler üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur (p=0,007), (Tablo 4.12.).

Tablo 4.12. Hasta ve kontrol grupları arasında MTRR (A66G) gen varyasyonunun genotip dağılımları

			Hasta grubu (n=102)	Kontrol grubu (n=102)	Toplam (n=204)	p*
MTRR (A66G)	AA	n	45	27	72	**0,007***
		MTRR (A66G) içinde	% 62,5	% 37,5	% 100	
		% grup içinde	% 44,1	% 26,5	% 35,3	
	AG	n	36	58	94	
		MTRR (A66G) içinde	% 38,3	% 61,7	% 100	
		% grup içinde	% 35,3	% 56,9	% 46,1	
	GG	n	21	17	38	
		MTRR (A66G) içinde	% 55,3	% 44,7	% 100	
		% grup içinde	% 20,6	% 16,7	% 18,6	
Toplam		n	102	102	204	
		MTRR (A66G) içinde	% 50	% 50	% 100	
		% grup içinde	% 100	% 100	%100	

A: Adenin; **G**: Guanin
*Ki-kare testi

MTRR (A66G) gen varyasyonu için istatistiksel olarak Hardy-Weinberg Dağılımı uygulanarak bulundu (Tablo 4.13., 4.14.).

Tablo 4.13. Hasta grubunun alel dağılımı

Hasta Alel Dağılımı	**A**	**G**
n=204	126	78
Frekans	0,6516	0,3824
HW p	0,0119	

A: Adenin; **G**: Guanin
*Hardy-Weinberg

Tablo 4.14. Kontrol grubunun alel dağılımı

Kontrol Alel Dağılımı	**A**	**G**
n=204	112	92
Frekans	0,5490	0,4510
HW p*	0,1651	

A: Adenin; **G**: Guanin
*Hardy-Weinberg

4.3. MTHFR (C677T) Gen Varyasyonu İçin Genotip Dağılımları

İstatistiksel analizden elde edilen verilere göre, MTHFR (C677T) gen varyasyonunun genotip dağılımlarına bakıldığında; MS tanılı hasta grubunda CC genotipinin 43 (% 46,7) hasta, CT genotipinin 44 (% 52,4) hasta ve TT genotipinin 15 (% 53,6) hasta bireyde görüldüğü bulunmuştur. Kontrol grubunda ise, CC genotipinin 49 (% 53,3) kişi, CT genotipinin 40 (% 47,6) kişi ve TT genotipinin 13 (% 46,4) kişide görüldüğü tespit edilmiştir. MS tanılı hasta grubu ile MS tanısı olmayan kontrol grubunun CC, CT ve TT genotipleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Mann Whitney U testi kullanılarak yapılan, MS tanılı hasta grubu ve MS tanısı olmayan kontrol grubu karşılaştırılımasında MTHFR (C677T) gen varyasyonunda genotipler üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı fark bulanamamıştır (p=0,696), (Tablo 4.15.).

Tablo 4.15. Hasta ve kontrol grupları arasında MTHFR (C677T) gen varyasyonunun genotip dağılımları

			Hasta grubu (n=102)	Kontrol grubu (n=102)	Toplam (n=204)	p*
MTHFR (C677T)	CC	n	43	49	92	0,696
		MTHFR (C677T) içinde	% 46,7	% 53,3	% 100	
		% grup içinde	% 42,2	% 48,0	% 45,1	
	CT	n	44	40	84	
		MTHFR (C677T) içinde	% 52,4	% 47,6	% 100	
		% grup içinde	% 43,1	% 39,2	% 41,2	
	TT	n	15	13	28	
		MTHFR (C677T) içinde	% 53,6	% 46,4	% 100	
		% grup içinde	% 14,7	% 12,7	% 13,7	
Toplam		n	102	102	204	
		MTHFR (C677T) içinde	% 50	% 50	% 100	
		% grup içinde	% 100	% 100	%100	

C: Sitozin; **T**: Timin
*Ki-kare testi.

MTHFR (C677T) gen varyasyonu için istatistiksel olarak Hardy-Weinberg Dağılımı uygulanarak bulundu (Tablo 4.16., 4.17.).

Tablo 4.16. Hasta grubunun alel dağılımı

Hasta Alel Dağılımı	**C**	**T**
n=204	130	74
Frekans	0,6373	0,3627
HW p*	0,5223	

C: Sitozin, **T:** Timin
Hardy-Weinberg Testi

Tablo 4.17. Kontrol grubunun alel dağılımı

Kontrol Alel Dağılımı	**C**	**T**
n=204	138	66
Frekans	0,6765	0,3235
HW p*	0,3638	

C: Sitozin, **T:** Timin
Hardy-Weinberg Testi

5. TARTIŞMA

Multiple Skleroz'un çok faktörlü bir hastalık olması, etiyolojisindeki karmaşık çevre genetik etkileşimleri bu çalışma için sınırlılık oluşturmaktadır. Hastalığa olan genetik yatkınlık kişilerde MS oluşma riskini arttırır. Ayrıca kişilerin yaşadığı coğrafya, beslenme tarzları gibi çevresel faktörler de hastalığın oluşmasında etkilidir. MS hastalarının MTR (A2756G), MTRR (A66G) ve MTHFR C(677T) gen varyasyonlarının genotip dağılımlarının incelenmesi açısından sınırlı sayıda çalışma olması sebebiyle hastalığın genetik mekanizmalarının daha ayrıntılı bir şekilde incelenmesine yönelik daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeple çalışmamızda elde edilen bulguların daha sonraki çalışmalar için literatüre önemli katkılar sağlayacağını düşünerek çalışmamızı gerçekleştirdik.

Naghibalhossaini ve ark. (59), 2015 yılında, İran popülasyonunda yaptıkları çalışmalarda MTHFR (C677T) gen varyasyonu ile MS geliştirme duyarlılığı arasında anlamlı fark bulduklarını bildirdi. Bulguları CT ve TT genotiplerinin CC genotipine kıyasla MS duyarlılığını arttırdığı yönündeydi.

Cevik ve ark. (60), 2014 yılında, Türk popülasyonda MTHFR (C677T) gen varyasyonu ile MS arasında anlamlı ilişki bulduklarını bildirdi. CC genotipinin CT ve TT genotiplerine kıyasla MS için risk faktörü olduğunu bildirdiler.

Aşçı ve ark, (61), 2024 yılında, yaptıkları çalışmada MTHFR geninin T alelini MS için risk faktörü olarak bildirdi.

Cakina ve ark. (62), 2019 yılında Türk popülasyounda yaptıkları çalışmalarında MTHFR (C677T) gen varyasyonu ile MS arasında ilişki bulduklarını bildirdi. Çalışma bulgularına göre TT genotipi MS için risk faktörüydü.

Huang ve ark. (63), 1997 tarihli çalışmalarında MTHFR (C677T) gen varyasyonları ile MS duyarlılığı arasında bir ilişki bulamadıklarını bildirdi.

Tajouri ve ark. (64), 2006 yılında yaptıkları çalışmada MTHFR gen varyasyonlarının MS duyarlılığını etkilemediği sonucuna vardıklarını bildirdi.

Fekih ve ark. (65), 2013 yılında Tunus popülasyonuyla yaptıkları çalışmada MTHFR gen polimorfizminin MS riski için anlamlı olmadığını bildirdi.

Literatürdeki MTHFR (C677T) gen polimorfizmi ile MS duyarlılığı arasında ilişki bulunduğunu bildiren çalışmalar, farklı genotiplerin duyarlılığı etkilediğini söyleyerek farklı sonuçlar vermektedir. Bu farkın çalışılan etnik kökenle ilişkili olduğu düşünülebilir. Buna ek olarak MTHFR (C677T) gen varyasyonları ile MS duyarlılığı arasında ilişki bulamadıklarını bildiren çalışmaların sayısı da azımsanamayacak ölçüdedir. Bu çalışmalara benzer şekilde, Türk popülasyonunda yaptığımız çalışmada MS hastalığında MTHFR (C677T) gen varyasyonlarının genotipleri dağımları açısından anlamlı bir ilişki tespit edemedik.

Cakina ve ark.(62), 2019 tarihli çalışmalarında MTRR (A66G) gen varyasyonunun MS duyarlılığını etkilemediğini bildirdi.

Szvetko ve ark. (66), 2007 yılında Avusturalya popülasyonunda yaptıkları çalışmada MTRR (A66G) gen varyasyonlarının MS duyarlılığı ile ilişkili bulunmadığını bildirdi.

Literatürdeki diğer çalışmalardan farklı olarak biz MTRR (A66G) gen varyasyonu ile MS arasında ilişki bulduk. Ancak MTRR (A66G) varyasyonu ile ilgili literatürde oldukça az sayıda çalışma vardır ve daha sağlıklı sonuçlar için çalışma sayısı arttırılmalıdır.

Cakina ve ark.(62), 2019 yılında yaptıkları çalışmada MTR (A2756C) gen polimorfizmi ile MS riski arasında anlamlı bir ilişki bulamadıklarını bildirdi.

Aşçı ve ark. (61), 2024 tarihli çalışmalarında MTR (A2756G) geninde G alelini MS için risk faktörü olarak değerlendirdiklerini bildirdi.

Chorąży ve ark. (67), 2019 yılında Polonya popülasyonunda yaptıkları çalışma sonucunda folat, homosistein, metiyonin metabolize eden genlerdeki enzimlerle MS arasında ilişki bulamadıklarını bildirdi.

Literatürdeki çalışmalar MTR (A2756C) gen varyasyonları ile MS hastalığı arasında ilişki olmadığını bildirmiştir. Bizim bulgularımız da bu genel kanıyı destekler niteliktedir. Ancak MTR (A2756C) gen bölgesi MS'te oldukça az çalışılmıştır ve daha fazla çalışma daha tutarlı sonuçlar elde edilebilme noktasında faydalı olacaktır.

Çalışmamızın sonucunda;

Ailesinde MS olan kişilerin MS olma riskini arttırabileceğini,

MTRR (A66G) gen varyasyonunun AA genotipinin MS hastalığı için risk faktörü oluşturabileceğini ve

MTRR (A66G) gen varyasyonunun AG genotipinin hastalığa karşı koruyucu faktör olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamız, MS erken tanısı ve sonrasında progresyonunda etkili olabilecek genetik belirteçlerin bulunabilmesi, dolayısıyla MS tedavisi için yeni stratejilerin geliştirilebilmesine yardımcı olabilecek önemli bilgilerin elde edilebilmesi noktasında önemlidir. Çalışmamızdan elde edilecek bulguların daha sonra yapılacak çalışmalar için de literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Doshi A, Chataway J. Multiple sclerosis, a treatable disease. Clin Med (Lond). 2016;16(Suppl 6):s53-s59. doi:10.7861/clinmedicine.16-6-s53
2. Travers BS, Tsang BK, Barton JL. Multiple sclerosis: Diagnosis, disease-modifying therapy and prognosis. Aust J Gen Pract. 2022;51(4):199-206. doi:10.31128/AJGP-07-21-6103
3. Díaz C, Zarco LA, Rivera DM. Highly active multiple sclerosis: An update. Mult Scler Relat Disord. 2019;30:215-224. doi:10.1016/j.msard.2019.01.039
4. Moghaddasi M, Mamarabadi M, Mohebi N, Razjouyan H, Aghaei M. Homocysteine, vitamin B12 and folate levels in Iranian patients with Multiple Sclerosis: a case control study. Clin Neurol Neurosurg. 2013;115(9):1802-1805. doi:10.1016/j.clineuro.2013.05.007
5. Reynolds EH, Bottiglieri T, Laundy M, Crellin RF, Kirker SG. Vitamin B12 metabolism in multiple sclerosis. Arch Neurol. 1992;49(6):649-652. doi:10.1001/archneur.1992.00530300089014
6. Reynolds E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. Lancet Neurol. 2006;5(11):949-960. doi:10.1016/S1474-4422(06)70598-1.
7. Shashaani H, Faramarzpour M, Hassanpour M, Namdar N, Alikhani A, Abdolahad M. Silicon nanowire based biosensing platform for electrochemical sensing of Mebendazole drug activity on breast cancer cells. Biosens Bioelectron. 2016;85:363-370. doi:10.1016/j.bios.2016.04.081
8. Bueno O, Molloy AM, Fernandez-Ballart JD, García-Minguillán CJ, Ceruelo S, Ríos L, et al. Common Polymorphisms That Affect Folate Transport or Metabolism Modify the Effect of the MTHFR 677C > T Polymorphism on Folate Status. J Nutr. 2016;146(1):1-8. doi:10.3945/jn.115.223685
9. Naghibalhossaini F, Ehyakonandeh H, Nikseresht A, Kamali E. Association Between MTHFR Genetic Variants and Multiple Sclerosis in a Southern Iranian Population. Int J Mol Cell Med. 2015;4(2):87-93.

10. Lee YH, Seo YH, Kim JH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Meta-analysis of associations between MTHFR and GST polymorphisms and susceptibility to multiple sclerosis. Neurol Sci. 2015;36(11):2089-2096. doi:10.1007/s10072-015-2318-7
11. Alatab S, Hossein-nezhad A, Mirzaei K, Mokhtari F, Shariati G, Najmafshar A. Inflammatory profile, age of onset, and the MTHFR polymorphism in patients with multiple sclerosis. J Mol Neurosci. 2011;44(1):6-11. doi:10.1007/s12031-010-9486-y
12. Cevik B, Yigit S, Karakus N, Aksoy D, Kurt S, Ates O. Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism with multiple sclerosis in Turkish patients. J Investig Med. 2014 Dec;62(8):980-4. doi: 10.1097/JIM.0000000000000107. PMID: 25203152.
13. Cakina S, Ocak O, Ozkan A, Yucel S, Ozısık Karaman HI. Relationship between genetic polymorphisms MTHFR (C677T, A1298C), MTR (A2756G) and MTRR (A66G) genes and multiple sclerosis: a case-control study. Folia Neuropathol. 2019;57(1):36-40. doi:10.5114/fn.2019.83829
14. GBD 2016 Multiple Sclerosis Collaborators. Global, regional, and national burden of multiple sclerosis 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet Neurol. 2019;18(3):269-285. doi:10.1016/S1474-4422(18)30443-5
15. Deisenhammer F, Zetterberg H, Fitzner B, Zettl UK. The Cerebrospinal Fluid in Multiple Sclerosis. Front Immunol. 2019;10:726. Published 2019 Apr 12. doi:10.3389/fimmu.2019.00726
16. Perdaens O, van Pesch V. Should We Consider Neurodegeneration by Itself or in a Triangulation with Neuroinflammation and Demyelination? The Example of Multiple Sclerosis and Beyond. *Int J Mol Sci*. 2024;25(23):12637. Published 2024 Nov 25. doi:10.3390/ijms252312637
17. Lassmann H, van Horssen J, Mahad D. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. Nat Rev Neurol. 2012;8(11):647-656. doi:10.1038/nrneurol.2012.168
18. Loma I, Heyman R. Multiple sclerosis: pathogenesis and treatment. Curr Neuropharmacol. 2011;9(3):409-416. doi:10.2174/157015911796557911

19. Van Noort JM, Baker D, Kipp M, Amor S. The pathogenesis of multiple sclerosis: a series of unfortunate events. Clin Exp Immunol. 2023;214(1):1-17. doi:10.1093/cei/uxad075

20. Ontaneda D, Thompson AJ, Fox RJ, Cohen JA. Progressive multiple sclerosis: prospects for disease therapy, repair, and restoration of function. Lancet. 2017;389(10076):1357-1366. doi:10.1016/S0140-6736(16)31320-4

21. Kamma E, Lasisi W, Libner C, Ng HS, Plemel JR. Central nervous system macrophages in progressive multiple sclerosis: relationship to neurodegeneration and therapeutics. J Neuroinflammation. 2022;19(1):45. Published 2022 Feb 10. doi:10.1186/s12974-022-02408-y

22. Eshaghi A, Marinescu RV, Young AL, Firth, NC, Prados F, Jorge Cardoso M, et al. Progression of regional grey matter atrophy in multiple sclerosis. Brain. 2018;141(6):1665-1677. doi:10.1093/brain/awy088

23. Lublin FD, Häring DA, Ganjgahi H, Ocampo A, Hatami F, Čuklina J, et al. How patients with multiple sclerosis acquire disability. Brain. 2022;145(9):3147-3161. doi:10.1093/brain/awac016

24. Sun M, Liu N, Xie Q, Li X, Sun J, Wang H, et al. A candidate biomarker of glial fibrillary acidic protein in CSF and blood in differentiating multiple sclerosis and its subtypes: A systematic review and meta-analysis. Mult Scler Relat Disord. 2021;51:102870. doi:10.1016/j.msard.2021.102870

25. Dighriri IM, Aldalbahi AA, Albeladi F, Tahiri AA, Kinani EM, Almohsen RA, et al. An Overview of the History, Pathophysiology, and Pharmacological Interventions of Multiple Sclerosis. Cureus. 2023;15(1):e33242. Published 2023 Jan 2. doi:10.7759/cureus.33242

26. Loma I, Heyman R. Multiple sclerosis: pathogenesis and treatment. Curr Neuropharmacol. 2011;9(3):409-416. doi:10.2174/157015911796557911

27. van Noort JM, Baker D, Kipp M, Amor S. The pathogenesis of multiple sclerosis: a series of unfortunate events. Clin Exp Immunol. 2023;214(1):1-17. doi:10.1093/cei/uxad075

28. Haile RW, Hodge SE, Iselius L. Genetic susceptibility to multiple sclerosis: a review. Int J Epidemiol. 1983;12(1):8-16. doi:10.1093/ije/12.1.8

29. Barcellos LF, Oksenberg JR, Begovich AB, Martin ER, Schmidt S, Vittinghoff E, et al. HLA-DR2 dose effect on susceptibility to multiple sclerosis and influence on disease course. Am J Hum Genet. 2003;72(3):710-716. doi:10.1086/367781

30. Goodin DS. The genetic basis of multiple sclerosis: a model for MS susceptibility. BMC Neurol. 2010;10:101. Published 2010 Oct 28. doi:10.1186/1471-2377-10-101

31. Thacker EL, Mirzaei F, Ascherio A. Infectious mononucleosis and risk for multiple sclerosis: a meta-analysis. Ann Neurol. 2006;59(3):499-503. doi:10.1002/ana.20820

32. Van der Mei IA, Ponsonby AL, Dwyer T, Blizzard L, Simmons R, Taylor BV, et al. Past exposure to sun, skin phenotype, and risk of multiple sclerosis: case-control study. BMJ. 2003;327(7410):316. doi:10.1136/bmj.327.7410.316

33. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. Ann Neurol. 2007;61(6):504-513. doi:10.1002/ana.21141

34. Kampman MT, Brustad M. Vitamin D: a candidate for the environmental effect in multiple sclerosis - observations from Norway. Neuroepidemiology. 2008;30(3):140-146. doi:10.1159/000122330

35. Scalfari A, Knappertz V, Cutter G, Goodin DS, Ashton R, Ebers GC. Mortality in patients with multiple sclerosis. Neurology. 2013;81(2):184-192. doi:10.1212/WNL.0b013e31829a3388

36. Nielsen NM, Rostgaard K, Rasmussen S, Koch-Henriksen N, Storm HH, Melbye M, et al. Cancer risk among patients with multiple sclerosis: a population-based register study. Int J Cancer. 2006;118(4):979-984. doi:10.1002/ijc.21437

37. Lunde HMB, Assmus J, Myhr KM, Bø L, Grytten N. Survival and cause of death in multiple sclerosis: a 60-year longitudinal population study. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2017;88(8):621-625. doi:10.1136/jnnp-2016-315238

38. Lane J, Ng HS, Poyser C, Lucas RM, Tremlett H. Multiple sclerosis incidence: A systematic review of change over time by geographical region. Mult Scler Relat Disord. 2022;63:103932. doi:10.1016/j.msard.2022.103932

39. Walton C, King R, Rechtman L, Kaye W, Leray E, Marrie RA, et al. Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: Insights from the Atlas of MS, third edition. Mult Scler. 2020;26(14):1816-1821. doi:10.1177/1352458520970841

40. Portaccio E, Magyari M, Havrdova EK, Ruet A, Brochet B, Scalfari A, et al. Multiple sclerosis: emerging epidemiological trends and redefining the clinical course. Lancet Reg Health Eur. 2024;44:100977. Published 2024 Aug 22. doi:10.1016/j.lanepe.2024.100977

41. Boluk C, Turkboru U, Tasdemir M, Gezer T. Epidemiology of multiple sclerosis in turkey;a ten year trend in rular cities. Turk J Neurol 2021;27(1):41-45. doi:10.4274/tnd.2020.36418

42. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. Lancet. 2008;372(9648):1502-1517. doi:10.1016/S0140-6736(08)61620-7

43. Fahmy EM, Elfayoumy NM, Abdelalim AM, Sharaf SA, Ismail RS, Elshebawy H. Relation of serum levels of homocysteine, vitamin B12 and folate to cognitive functions in multiple sclerosis patients. Int J Neurosci. 2018;128(9):835-841. doi:10.1080/00207454.2018.1435538

44. Ramsaransing GS, Fokkema MR, Teelken A, Arutjunyan AV, Koch M, De Keyser J. Plasma homocysteine levels in multiple sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2006;77(2):189-192. doi:10.1136/jnnp.2005.072199

45. Dardiotis E, Arseniou S, Sokratous M, Tsouris Z, Siokas V, Mentis AA, et al. Vitamin B12, folate, and homocysteine levels and multiple sclerosis: A meta-analysis. Mult Scler Relat Disord. 2017;17:190-197. doi:10.1016/j.msard.2017.08.004

46. Zhu Y, He ZY, Liu HN. Meta-analysis of the relationship between homocysteine, vitamin B_{12}, folate, and multiple sclerosis. J Clin Neurosci. 2011;18(7):933-938. doi:10.1016/j.jocn.2010.12.022

47. Li X, Yuan J, Han J, Hu W. Serum levels of Homocysteine, Vitamin B12 and Folate in Patients with Multiple Sclerosis: an Updated Meta-Analysis. Int J Med Sci. 2020;17(6):751-761. Published 2020 Mar 5. doi:10.7150/ijms.42058

48. Koo K, Stuart WD. Sequence and structure of mtr, an amino acid transport gene of Neurospora crassa. Genome. 1991;34(4):644-651. doi:10.1139/g91-098

49. Li YN, Gulati S, Baker PJ, Brody LC, Banerjee R, Kruger WD. Cloning, mapping and RNA analysis of the human methionine synthase gene. Hum Mol Genet. 1996;5(12):1851-1858. doi:10.1093/hmg/5.12.1851

50. Sadhukhan S, Maity S, Chakraborty S, Paul S, Munian D, Pattanayak A, et al. Molecular Insight into the Effect of a Single-Nucleotide Polymorphic Variation on the Structure and Dynamics of Methionine Synthase Reductase and Its Association with Neural Tube Defects. ACS Omega. 2021;6(40):26372-26380. Published 2021 Sep 30. doi:10.1021/acsomega.1c03563

51. Szvetko A, Fowdar J, Nelson J, Colson N, Tajouri L, Csurhes P, et al. No association between MTHFR A1298C and MTRR A66G polymorphisms, and MS in an Australian cohort. J Neurol Sci. 2007;252(1):49-52. doi:10.1016/j.jns.2006.10.006

52. Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst P, Tran P, Chen Z, et al. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) [published correction appears in Mamm Genome 1999 Feb;10(2):204]. Mamm Genome. 1998;9(8):652-656. doi:10.1007/s003359900838

53. Wilfinger WW, Mackey K, Chomczynski P. Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity. Biotechniques. 1997;22(3):474-481. doi:10.2144/97223st01

54. Guha P, Das A, Dutta S, Chaudhuri TK. A rapid and efficient DNA extraction protocol from fresh and frozen human blood samples. J Clin Lab Anal. 2018;32(1):e22181. doi:10.1002/jcla.22181

55. Bartlett JM, Stirling D. A short history of the polymerase chain reaction. Methods Mol Biol. 2003;226:3-6. doi:10.1385/1-59259-384-4:3

56. Templeton NS. The polymerase chain reaction. History, methods, and applications. Diagn Mol Pathol. 1992;1(1):58-72. doi:10.1097/00019606-199203000-00008

57. Alkanlı N. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim ve Anjiyotensin II Tip 1 Reseptör Gen Polimorfizmlerinin Türk Kadınlarında Görülen Preeklampsi İle İlişkisi. [Yüksek lisans tezi]. Edirne: Trakya Üniversitesi; 2007.

58. Sprague, S, Slavin W, Determination of iron, copper and zinc in blood serum byr an atomic absorption method requiring only dilution. At Absorp Newslett 1965; p.228-33.

59. Naghibalhossaini F, Ehyakonandeh H, Nikseresht A, Kamali E. Association Between MTHFR Genetic Variants and Multiple Sclerosis in a Southern Iranian Population. Int J Mol Cell Med. 2015;4(2):87-93.

60. Cevik B, Yigit S, Karakus N, Aksoy D, Kurt S, Ates O. Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism with multiple sclerosis in Turkish patients. J Investig Med. 2014;62(8):980-984. doi:10.1097/JIM.0000000000000107

61. Aşcı AE, Orhan G, Karahalil B. Genetic variants of folate metabolism and the risk of multiple sclerosis. Neurol Res. 2024;46(6):544-552. doi:10.1080/01616412.2024.2337519

62. Cakina S, Ocak O, Ozkan A, Yucel S, Ozısık Karaman HI. Relationship between genetic polymorphisms MTHFR (C677T, A1298C), MTR (A2756G) and MTRR (A66G) genes and multiple sclerosis: a case-control study. Folia Neuropathol. 2019;57(1):36-40. doi:10.5114/fn.2019.83829

63. Huang WX, He B, Hillert J. A methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in multiple sclerosis. Eur J Neurol. 1997;4(2):185-187. doi:10.1111/j.1468-1331.1997.tb00325.x

64. Tajouri L, Martin V, Gasparini C, Ovcaric M, Curtain R, Lea R, et al. Genetic investigation of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and catechol-O-methyl transferase (COMT) in multiple sclerosis. Brain Res Bull. 2006;69(3):327-331. doi:10.1016/j.brainresbull.2006.01.005

65. Fekih Mrissa N, Mrad M, Klai S, Zaouali J, Sayeh A, Mazigh C, et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase A1298C polymorphism but not of C677T with multiple sclerosis in Tunisian patients. Clin Neurol Neurosurg. 2013;115(9):1657-1660. doi:10.1016/j.clineuro.2013.02.025

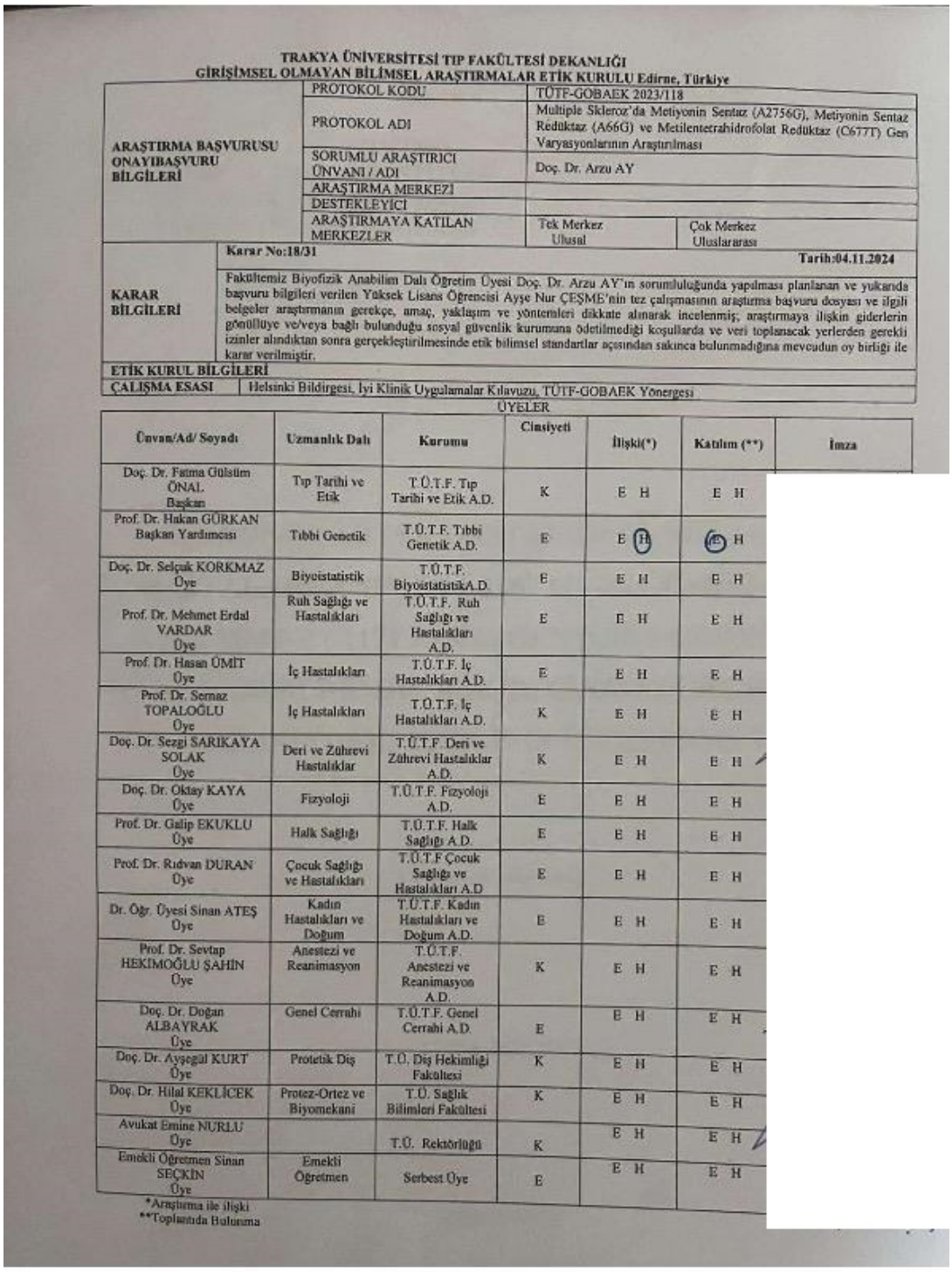
66. Szvetko A, Fowdar J, Nelson J, Colson N, Tajouri L, Csurhes P, et al. No association between MTHFR A1298C and MTRR A66G polymorphisms, and MS in an Australian cohort. J Neurol Sci. 2007;252(1):49-52. doi:10.1016/j.jns.2006.10.006

67. Chorąży M, Wawrusiewicz-Kurylonek N, Gościk J, Posmyk R, Czarnowska A, Więsik M, et al. Association between polymorphisms of a folate - homocysteine - methionine -

SAM metabolising enzyme gene and multiple sclerosis in a Polish population. Neurol Neurochir Pol. 2019;53(3):194-198. doi:10.5603/PJNNS.a2019.0019

EKLER

EK 1: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı



TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
GİRİŞİMSEL OLMAYAN BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-GOBAEK 2023/118	
	PROTOKOL ADI	Multiple Sklerozʼda Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) ve Metilentetrahidrofolat Redüktaz (C677T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Doç. Dr. Arzu AY	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:18/31**	**Tarih:04.11.2024**	
	Fakültemiz Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Arzu AYʼın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Yüksek Lisans Öğrencisi Ayşe Nur ÇEŞMEʼnin tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş; araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakıncа bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.	
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-GOBAEK Yönergesi		

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Doç. Dr. Fatma Gülsüm ÖNAL Başkan	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	E H	
Prof. Dr. Hakan GÜRKAN Başkan Yardımcısı	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E H	E H	
Doç. Dr. Selçuk KORKMAZ Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. BiyoistatistikA.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Mehmet Erdal VARDAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Semaz TOPALOĞLU Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Sezgi SARIKAYA SOLAK Üye	Deri ve Zührevi Hastalıklar	T.Ü.T.F. Deri ve Zührevi Hastalıklar A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Oktay KAYA Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Galip EKUKLU Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Rıdvan DURAN Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	E	E H	E H	
Dr. Öğr. Üyesi Sinan ATEŞ Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Doğan ALBAYRAK Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	
Doç. Dr. Ayşegül KURT Üye	Protetik Diş	T.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	K	E H	E H	
Doç. Dr. Hilal KEKLİCEK Üye	Protez-Ortez ve Biyomekani	T.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi	K	E H	E H	
Avukat Emine NURLU Üye		T.Ü. Rektörlüğü	K	E H	E H	
Emekli Öğretmen Sinan SEÇKİN Üye	Emekli Öğretmen	Serbest Üye	E	E H	E H	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

EK 2: Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Onayı

T.C. TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ SÖZLEŞMESİ

PROJE NO: 2023/146
PROJE NİTELİĞİ: YÜKSEK LİSANS

1-PROJE BAŞLIĞI

Multiple Skleroz'da Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) ve Metilentetrahidrofolat Redüktaz (C667T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması

2-PERSONEL BİLGİLERİ

	Adı ve Soyadı	Unvanı	Telefon
Proje Yöneticisi	Doç.Dr Arzu AY	Doç.Dr	(284)235-7641
Araştırmacılar	Öğrenci Ayşe Nur ÇEŞME	Öğrenci	(284)235-7641

3-PROJE BÜTÇESİ

Teçhizatın Tanımı :	**Detay listesi ektedir.**
Ekonomik Kod	**Toplam Fiyatı (TL)**
830.03.02 TÜKETİME YÖNELİK MAL VE MALZEME ALIMLARI	44.999,00
TOPLAM ÖDENEK	44.999,00

3-PROJE GELİŞİMİ

1.Projenin Kabul Tarihi: 06-09-2023		
2.Projenin Başlama Tarihi :04-10-2023	**1.Ara Rapor** : 03-04-2024	**Sonuç :** ..... (+ / -)
3.Projenin Bitiş Tarihi : 03-10-2024	**Sonuç Raporu** : 03-10-2024	**Sonuç :** ..... (+ / -)
4.Projenin Süresi: 12 Ay		

5.İLGİLİ BÖLÜM VE FAKÜLTE:

Tıp Fakültesi / Temel Tıp Bilimleri Bölümü

6.PROJENİN UYGULAMASI

1. Bu proje 2547 sayılı YÖK Kanununun 4684 sayılı Kanunla değişik 58.maddesi gereğince, Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma Projeleri Hakkında Yönetmelik ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Uygulama Yönergesi çerçevesinde yürütülür.
2. Proje süresinde ve harcama fasıllarında Rektörlük onayı alınmadan değişiklik yapılamaz.
3. Proje Yöneticisi her 6 ayın sonunda gelişme raporunu, Bölüm Başkanlığı ve ilgili Dekanlık veya Enstitü Müdürlüğü aracılığı ile Rektörlüğe iletmekle yükümlüdür.
4. Projelerden alınan teçhizat tüm öğretim üyelerinin kullanımına açıktır.
5. Süresi geçtiği halde gelişme raporu verilmemiş veya süresi bitmiş olup süre uzatımı talebinde bulunulmamış projeler iptal edilir. Bakiye ödenek, BAP Komisyonu tarafından kabul edilecek yeni projelere tahsis edilir veya diğer projelere aktarılır.

	Adı-Soyadı	Tarih	İmza
Proje Yöneticisi :	Doç.Dr Arzu AY		

Komisyon Baskanı

Prof. Dr. Osman Nuri HATİPOĞLU
Rektör Yardımcısı

EK 3: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (MS)

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sayın katılımcı

Siz aşağıdaki bilgileri verilen bir araştırma projesine davet edilmektesiniz.

Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun …… tarih ve …… sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi (TÜBAP) tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

- **Araştırmanın bilimsel adı:** "Multiple Skleroz'da Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) ve Metilentetrahidrofolat Redüktaz (C677T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması"
- **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Multiple Skleroz tanısı alan hastalarda genetik varyasyonların rollerinin araştırılması
- **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Arzu AY Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik A.D.
- **Araştırmanın amacı:** Multiple Skleroz'da Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) ve Metilentetrahidrofolat Redüktaz (C677T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması amaçlanmaktadır. Bu genler üzerindeki varyasyonların Multiple Skleroz hastalığına katkıda bulunabilecek faktörlerden olduğunu düşünmekteyiz.
- **Araştırmanın niteliği (klinik, laboratuvar, epidemiyolojik, tez çalışması vb.):** Araştırmamız Yüksek Lisans tez çalışması niteliğine sahiptir.
- **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** 03.04.2023 (1 yıl)
- **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** 101 Hasta, 101 Kontrol
- **Araştırma sırasında gönüllüye uygulanacak yöntem, girişim ve tedavilerin tümü:** Rutin kontrol sırasında vermiş olduğunuz kandan 2'şer ml ayrılarak Biyofizik A.D. laboratuvarında gerekli incelemeler yapılacaktır.
- **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Nöroloji Polikliniğine ve servisine başvuran multiple skleroz tanısı almış, 19 yaşından gün almış olan yetişkin kadın ve kişiler

- **Araştırmadan doğrudan gönüllü için beklenen yarar:** Multiple skleroz tanısı alan hastalar için çalışmamızda genetik yatkınlık incelenecektir. Hastalığa etkisinin ortaya çıkarılmasında gerekli önlemlerin önceden alınabilmesini sağlayacak bilgiler elde edilecektir.
- **Gönüllünün sorumlulukları:** Bulunmamaktadır.
- **Gönüllünün (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacaksa ise embriyo, fetüs veya süt çocuklarının da) maruz kalabilecekleri riskler veya rahatsızlıklar:** Araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılmayacaktır.
- **Risklere karşı alınan önlemler:** Araştırma kapsamında yalnızca rutin alınmış 2'şer ml kontrol kanlarınızdan kullanılacağından, hiçbir girişim bulunmayacağından önlem alınması gereken hiçbir risk bulunmamaktadır.
- **Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:** Sizlere çalışma hakkında bilgi verildikten sonra gönüllü olma, çalışmaya katılmayı reddetme veya katıldıktan sonra çalışmadan çekilme haklarınız bulunmaktadır. Çalışmaya katılıp katılmamanız tanı ve tedavinizi hiçbir şekilde etkilemeyecektir. Araştırmacı da çeşitli nedenlerle kişileri araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel olarak kullanılacaktır.
- **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Araştırma sonucunda sizlere herhangi bir bilgi verilmeyecektir ancak sonuçlar hakkında bilgi almak isterlerse araştırmacıya ulaşabileceksiniz ve bilgi alabileceksiniz.
- **Gönüllülerin araştırma hakkında, kendileri hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinebilmesi için temasa geçebileceği kişi ve kendisine günün 24 saatinde erişebileceği telefon numarası:**

  Yüksek Lisans Öğrencisi Ayşe Nur Çeşme
- **Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyallerin hangi amaçlarla kullanılacağı:** "Multiple Skleroz'da Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) ve Metilentetrahidrofolat Redüktaz (C677T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması"

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmalim nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabileceğini biliyorum.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun gerekli gördüğünde, gizliliğimin korunması ilkesine uygun olarak, araştırma konusuyla ilişkili orijinal tıbbi kayıtlarıma doğrudan erişimde bulunabileceğini biliyorum

İlgili yasal düzenlemeler gereğince kimliğimi ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı bana açıklandı.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu adlı metni okudum. Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım. Yukarıda konusu belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nun tam imzalı bir kopyasını aldım.

- ***Gönüllünün; (El yazısı ile)***

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

- ***Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)***

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

- ***Açıklamaları yapan araştırmacının***

Unvanı, Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

Görev yaptığı bölüm:

İmzası:

Tarih:

EK 4: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Kontrol Grubu)

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sayın katılımcı

Siz aşağıdaki bilgileri verilen bir araştırma projesine davet edilmektesiniz.

Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun …… tarih ve …….. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi (TÜBAP) tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

- **Araştırmanın bilimsel adı:** "Multiple Skleroz'da Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) ve Metilentetrahidrofolat Redüktaz (C677T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması"
- **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Multiple Skleroz tanısı alan hastalarda genetik varyasyonların rollerinin araştırılması
- **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Arzu AY Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik A.D.
- **Araştırmanın amacı:** Multiple Skleroz'da Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) ve Metilentetrahidrofolat Redüktaz (C677T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması amaçlanmaktadır. Bu genler üzerindeki varyasyonların Multiple Skleroz hastalığına katkıda bulunabilecek faktörlerden olduğunu düşünmekteyiz.
- **Araştırmanın niteliği (klinik, laboratuvar, epidemiyolojik, tez çalışması vb.):** Araştırmamız Yüksek Lisans tez çalışması niteliğine sahiptir.
- **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** 03.04.2023-(1 yıl)
- **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** 101 Hasta, 101 Kontrol
- **Araştırma sırasında gönüllüye uygulanacak yöntem, girişim ve tedavilerin tümü:** Rutin kontrol sırasında vermiş olduğunuz kandan 2'şer ml ayrılarak Biyofizik A.D. laboratuvarında gerekli incelemeler yapılacaktır.
- **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Polikliniklerine ve servislerine başvuran Multiple Skleroz tanısı almamış sağlıklı, 19 yaşından gün almış olan kadın ve erkek yetişkin kişiler

- **Araştırmadan doğrudan gönüllü için beklenen yarar:** Sizin için doğrudan beklenen bir yarar bulunmamakla birlikte multiple skleroz tanısı alan hastalar için çalışmamızda genetik yatkınlık incelenecektir. Hastalığa etkisinin ortaya çıkarılmasında gerekli önlemlerin önceden alınabilmesini sağlayacak bilgiler elde edilecektir.
- **Gönüllünün sorumlulukları:** Bulunmamaktadır.
- **Gönüllünün (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacaksa ise embriyo, fetüs veya süt çocuklarının da) maruz kalabilecekleri riskler veya rahatsızlıklar:** Araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılmayacaktır.
- **Risklere karşı alınan önlemler:** Araştırma kapsamında yalnızca rutin alınmış 2'şer ml kontrol kanlarınızdan kullanılacağından, hiçbir girişim bulunmayacağından önlem alınması gereken hiçbir risk bulunmamaktadır.
- **Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:** Sizlere çalışma hakkında bilgi verildikten sonra gönüllü olma, çalışmaya katılmayı reddetme veya katıldıktan sonra çalışmadan çekilme haklarınız bulunmaktadır. Çalışmaya katılıp katılmamanız tanı ve tedavinizi hiçbir şekilde etkilemeyecektir. Araştırmacı da çeşitli nedenlerle kişileri araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel olarak kullanılacaktır.
- **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Araştırma sonucunda sizlere herhangi bir bilgi verilmeyecektir ancak sonuçlar hakkında bilgi almak isterlerse araştırmacıya ulaşabileceksiniz ve bilgi alabileceksiniz.
- **Gönüllülerin araştırma hakkında, kendileri hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinebilmesi için temasa geçebileceği kişi ve kendisine günün 24 saatinde erişebileceği telefon numarası:**

  Yüksek Lisans Öğrencisi Ayşe Nur Çeşme
- **Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyallerin hangi amaçlarla kullanılacağı:** "Multiple Skleroz'da Metiyonin Sentaz (A2756G), Metiyonin Sentaz Redüktaz (A66G) ve Metilentetrahidrofolat Redüktaz (C677T) Gen Varyasyonlarının Araştırılması"

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmalim nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabileceğini biliyorum.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun gerekli gördüğünde, gizliliğimin korunması ilkesine uygun olarak, araştırma konusuyla ilişkili orijinal tıbbi kayıtlarıma doğrudan erişimde bulunabileceğini biliyorum

İlgili yasal düzenlemeler gereğince kimliğimi ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı bana açıklandı.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu adlı metni okudum. Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım. Yukarıda konusu belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nun tam imzalı bir kopyasını aldım.

- ***Gönüllünün; (El yazısı ile)***

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

- ***Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)***

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

- ***Açıklamaları yapan araştırmacının***

Unvanı, Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

Görev yaptığı bölüm:

İmzası:

Tarih:

X

ÖZGEÇMİŞ

BENZERLİK RAPORU

MULTİPLE SKLEROZ'DA METİYONİN SENTAZ (A2756G), METİYONİN SENTAZ REDÜKTAZ (A66G) VE METİLENTERAHİDROFOLAT REDÜKTAZ (C677T) GEN VARYASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

ORİJİNALLİK RAPORU

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

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	dspace.trakya.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%5
2	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%2
3	www.yyu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
4	KARAKURT, Cemşit, CELİLOĞLU, Can, ÖZGEN, Ünsal, YEŞİLADA, Elif, YOLOĞLU, Saim, ZABRISKIE, John and KOÇAK, Gülendam. "Presence of a D8/17 B lymphocyte marker and HLA-DR subgroups in patients with rheumatic heart disease", TUBITAK, 2011. Yayın	<%1
5	d2v96fxpocvxx.cloudfront.net İnternet Kaynağı	<%1
6	discovery.researcher.life İnternet Kaynağı	<%1