

Multipl Skleroz ve Endojen Antioksidan Serum Ürik Asit Arasındaki İlişki / *The Relationship Between the Multiple Sclerosis and Endogenous Antioxidan Serum Uric Acid*

Fatma Candan,¹ Nihal Işık,¹ Ilknur Aydın Cantürk,¹ Zahide Yılmaz,² Reyhan Gürer,³ Nüket Yıldız¹

¹Sağlık Bakanlığı Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniği, İSTANBUL

²KütaHYa Evliya Çelebi Devlet Hastanesi, KÜTAHYA

³Tuzla Devlet Hastanesi, İSTANBUL

ABSTRACT

The Relationship Between the Multiple Sclerosis and Endogenous Antioxidan Serum Uric Acid

Scientific background: Peroxynitrite (PRN) is a strong oxidant capable of damaging tissues and cells, and plays a major role in the pathogenesis of multiple sclerosis (MS). Uric acid (UA) is the naturally occurring final product of the purine metabolism in humans and the most prominent endojen antioxidant in serum. Uric acid selectively binds and inactivates the PRN. Recent studies suggested that patients with multiple sclerosis (MS) have lower levels of serum UA.

Objective: To investigate the role of the endogenous antioxidant defence in MS pathogenesis, by determining the serum UA levels of the MS patients and, examining the relationships with demographic and clinical characteristics of the patients.

Materials and methods: Serum uric acid levels were determined in 206 MS patients (151 women) all in the remission period, and in 38 age

and sex matched voluntary healthy subjects, served as a control group. Of the 206 patients; 159 had the relapsing-remitting (RR) type of the disease, 37 secondary progressive (SP) and 10 primary progressive (PP). Disability as assessed by EDSS (Expanded Disability Status Scale) score. In addition, during the follow up period (12 months), relapses were observed in 45 of the 206 patients. Serum UA levels and EDSS of the patients were also determined in the relapse period before the treatment and, compared with remission period.

Results: In the overall MS group, serum UA levels were significantly lower than in controls ($p < 0.0001$). Serum UA levels in both gender of MS patients were also significantly lower than in controls. No correlation was found between disease duration and serum UA levels in MS patients as a general group and also in both gender. Although in the overall MS group there was no significant relationship between the EDSS and UA, we found a significant inverse correlation of serum UA level in female and male gender with EDSS ($p < 0.05$). The lowest mean

Keywords: uric acid, peroxynitrite, multiple sclerosis

Yazışma Adresi/Address for Correspondence:

Fatma Candan
S.B. Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Nöroloji Kliniği, İstanbul
0216 566 40 00-1412, 0505 861 2970
candanfatma@hotmail.com

Dergiye Ulaşma Tarihi/Received: 01.12.2007

Kesin Kabul Tarihi/Accepted: 03.12.2007

Anahtar kelimeler: ürik asit, peroksinitrit, multipl skleroz

Bu çalışma 41. Ulusal Nöroloji Kongresi'nde sözel bildiri olarak sunulmuştur.

UA level was found in patients with PPMS, but the difference among the MS subgroups did not reach statistical significance. The mean serum UA level of the MS group in the relapse period (n:45), was significantly lower than that in remission period ($p<0.0001$), and EDSS of the patients were significantly higher than in remission period ($p<0.0001$).

Conclusions: Our findings showed that UA is primarily low in MS patients and might be used as an endojoen antioxidant during the relapse period. This study highlights the need to investigate the possible benefits of higher levels of uric acid to clinical findings in MS patients.

ÖZET

Bilimsel zemin: Peroksinitrit (PRN) güçlü bir oksidan olup doku ve hücrelere zarar verir ve multipl sklerozun (MS) patogenezinde major bir rol oynar. Ürik asit (ÜA) insanlarda pürin metabolizmasının doğal olarak oluşan son ürünüdür ve serumda en fazla bulunan endojoen antioksidandır. Ürik asit, PRN'ye seçici olarak bağlanıp onu inaktive eder. Yakın dönemde yapılan çalışmalarda MS hastalarında serum ÜA seviyesinin düşük olabileceği öne sürülmektedir.

Amaç: Bu çalışmanın amacı, endojoen antioksidan savunmanın, MS'nin patogenezindeki rolünü araştırmak için, multipl skleroz hastalarında serum ürik asit düzeylerini belirleyerek, demografik ve klinik özellikler ile olan ilişkisini incelemektir.

Gereç ve yöntemler: Ataksız dönemde bulunan 206 MS hastasında (151 kadın) ve 38 yaş ve cins eşleştirilmiş sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunda, serum ÜA değerleri belirlendi. Klinik alt tiplerine göre 206 hastanın; 159'u relapsing remitting (RR-MS), 37'si sekonder progresif (SP-MS) ve 10 hasta da primer progresif (PP-MS) formunda idi. Hastaların dizabiliteleri EDSS (Expanded Disability Status Scale) skoru ile değerlendirildi. Hastalar 12 ay boyunca takip edildi ve bu süre içinde 206 hastanın 45'inde atak gözlemlendi. Atak gözlenen hastalarda tedaviden hemen önce serum ÜA seviyeleri ve EDSS değerleri belirlenerek ataksız dönem ile karşılaştırıldı.

Sonuçlar: Multipl skleroz hastalarında, serum ürik asidi kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu ($p<0.0001$). Hastalar cinsiyetlere göre ayrıldığında, kadınlarda ve erkeklerde serum ÜA düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu. MS hastaları genel grup olarak ve cinsiyetlerine göre ayrıldığında; hastalık süresi ile serum ürik asidi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Tüm hasta grubunda EDSS ile serum ÜA arasında anlamlı bir ilişki saptanmaz iken, hastalar cinsiyetlere göre ayrıldığında, EDSS değerleri ile serum ÜA arasında anlamlı ters bir ilişki bulundu ($p<0.05$). Klinik alt tiplerine göre; en düşük serum ürik asit düzeyi sırası ile PP-MS, sonra SP-MS ve RR-MS hastalarında bulundu, fakat gruplar arası anlamlı fark saptanmadı. Takip süresince atak gözlenen 45 hastanın, ataksız döneme göre, ürik asit düzeylerinde anlamlı bir azalma ($p<0.0001$) ve EDSS değerlerinde anlamlı bir artış ($p<0.0001$) gözlemlendi.

Yorumlar: Bizim çalışmamızın sonuçları, MS hastalarında ürik asidin primer olarak düşük bulunabileceğini ve atak döneminde endojoen bir antioksidan olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bu çalışma, yüksek serum ürik asit seviyelerinin, klinik bulgulara olabilecek faydalarının araştırılması gerekliliğine dikkat çekmektedir.

GİRİŞ

Multipl skleroz (MS), merkezi sinir sisteminin inflamatuvar, demyelinizan kronik bir hastalığıdır ve genç yetişkinlerde en sık görülen nörolojik dizabilite nedenidir.¹⁻⁴ Son yıllarda hastalığın patogenezini açıklamaya yönelik çok sayıda araştırma yapılmıştır ve dikkatler otoimmün olaylara ve bunların sonucunda

ortaya çıkan toksik etkiler üzerine odaklanmıştır. Multipl sklerozun karakteristik lezyonu olan plakların oluşumu, lokal olarak üretilen toksik serbest bir radikal olan peroksinitrit (PRN) ile ilişkili bulunmuştur.⁵⁻⁷ Peroksinitrit, hücre ve dokuları zedeleyen güçlü bir oksidan olup, inflamasyon bölgelerinde nitrik oksidin (NO) süperoksit (SO) ile hızlı kombinasyonu sonucu oluşur.^{6,8-10}

Endojoen antioksidanlar, oksidan-aracılı oluşan doku zedelenmesinde birinci sıra defansı oluştururlar. Ürik asit (ÜA), insanlarda pürin metabolizmasının doğal olarak oluşan son ürünüdür ve vücutta serbest radikalleri temizleyen en fazla bulunan endojoen antioksidandır.¹¹⁻¹³ Ürik asit, PRN'ye seçici olarak bağlanıp onu inaktive eder.^{9,14,15} Güçlü bir peroksinitrit temizleyicisi olan ürik asit, MS'nin hayvan modeli olan "experimental autoimmune encephalomyelitis" in (EAE) tedavisinde iyi sonuçlar vermiştir.^{9,14,16-20}

Yakın dönemde yapılan bazı çalışmalarda, MS hastalarının serumlarında ürik asit seviyesinin düşük olabileceğine dikkat çekilmiştir,^{15,21,22} bununla beraber, ürik asidin bu hastalarda primer mi eksik olduğu veya antioksidan aktivitesinden dolayı sekonder olarak mı düşük olduğu henüz belirlenememiştir. Bu çalışmanın amacı, multipl skleroz hastalarında serum ürik asit düzeylerini belirleyerek, demografik ve klinik özellikler ile olan ilişkisini araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza 01 Temmuz 2003-01 Ağustos 2004 tarihleri arasında, SSK Göztepe Eğitim Hastanesi Nöroloji Kliniği Multipl Skleroz Polikliniğinde takip edilen, Poser ölçütlerine göre klinik veya laboratuvar olarak kesin MS tanısı²³ almış 206 MS hastası ile nörolojik ve sistemik hastalığı olmayan 38 kişi kontrol grubu olarak alındı. Hastaların hiçbirinde diyabet, kronik böbrek yetmezliği ve gut hastalığı yoktu ve kan alımı esnasında asetilsalisilik asit, tiazid diüretikleri, steroid veya antiepileptik ilaç kullanıyorlardı.^{15,21,24,25} Hastaların dizabilite ölçümleri, EDSS (Expanded Disability Status Scale)²⁶ değerleri belirlenerek yapıldı. Klinik alt tiplerine göre; 159 hasta relapsing remitting

(RR-MS), 37 hasta sekonder progresif (SP-MS) ve 10 hasta da primer progresif (PP-MS) formunda idi.

206 MS hastasının ataksız olduğu dönemde serum ürik asit seviyeleri belirlenirken, çalışma süresi boyunca hastaların 45'inde atak gözlemlendi ve tedaviden hemen önce atak dönemine ait serum ürik asit seviyeleri ve EDSS değerleri belirlendi. Atak, 24 saatten fazla süren, yeni bir şikâyet ve bulgunun ortaya çıktığı ya da önceden olan nörolojik şikâyetlerde bir artışın olduğu dönem olarak belirlenirken, ataksız dönem en az bir aydır, yeni bir nörolojik şikâyetin veya önceden var olan şikâyetlerde bir artışın olmadığı dönem olarak belirlendi.^{15,22}

Hastalardan ve kontrol grubundan sabah aç karnına kan örnekleri alındı. Serum ürik asit seviyeleri, SSK Göztepe Eğitim Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında, standart bir kit (Uric Acid, Enzymatic Colorimetric Test, Uricase-PAP) kullanılarak, hasta veya kontrol grubu bilinmeden bakıldı. Laboratuvar kitine göre serum ürik asidi için normal değerler kadınlarda: 2.4-5.7 mg/dl ve erkeklerde: 3.4-7.0 mg/dl olarak saptandı.

Çalışmamızda, I. Aşamada, MS hastalarında ve kontrol grubunda serum ürik asit düzeylerini inceledik; II. Aşamada, MS hastalarının demografik ve klinik bulguları ile serum ürik asit düzeyi arasındaki ilişkiyi araştırdık; III. Aşamada ise, 45 MS hastasında ataklı ve ataksız döneme ait serum ürik asit düzeylerini karşılaştırdık.

İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmada istatistiksel analizler GraphPad Prisma V.3 paket programı ile yapılmıştır.

Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra, gruplar arası karşılaştırmalarda tek yönlü varyans analizi, alt grup karşılaştırmalarında Tukey çoklu karşılaştırma testi, ikili grupların karşılaştırmasında bağımsız t testi, ikili grupların tekrarlayan ölçümlerinde eşlendirilmiş t testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare testi kullanılmıştır. Değişkenlerin birbirleri ile olan ilişkisi Pearson korelasyon testi ile belirlenmiştir. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

BULGULAR

MS hastalarının demografik ve klinik özellikleri Tablo 1'de gösterildi, hasta grubu ile kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyete göre anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

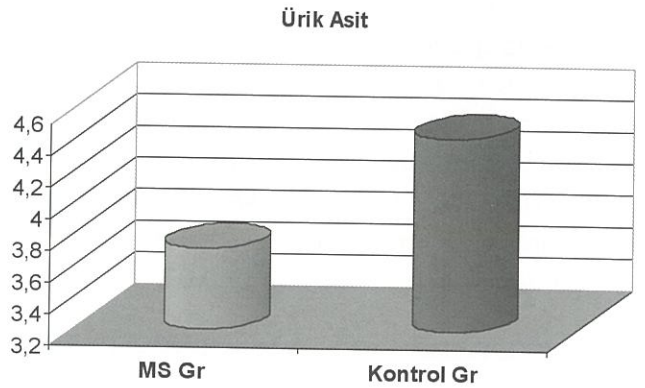
Tablo 1. MS hasta grubu ve kontrol grubunun demografik özellikleri

| | MS hasta grubu (n:206) | Kontrol grubu (n:38) | |
|-----------------------|---------------------------|-------------------------|------------|
| Yaş | 36.2±9.4 (17-64) | 36.1±12.9 (16-73) | $p > 0.05$ |
| Kadın / erkek | 151/55 | 25/13 | $p > 0.05$ |
| Hastalık süresi (yıl) | 7.6±4.9 (1-28) | | |
| EDSS | 2.5±1.9 (0.0-8.0) | | |

MS hastalarında serum ürik asit düzeyleri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0.0001$). Hastalar cinsiyetlere göre ayrıldığında kadın ve erkeklerde, serum ürik asit düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu (Tablo 2, Grafik 1).

Tablo 2. MS hastalarında ve kontrol grubunda serum ürik asit düzeyleri

| | MS Gr (n:206) | Kontrol Gr (n:38) | t | p |
|-----------|-----------------|-------------------|-------|----------|
| Ürik Asit | 3.71±1.02 mg/dl | 4.42±1.16 mg/dl | -3.86 | <0.0001* |
| Erkek | 4.43±0.86 mg/dl | 5.26±0.85 mg/dl | -3.11 | <0.01 |
| Kadın | 3.44±0.95 mg/dl | 3.98±1.06 mg/dl | -2.59 | <0.05 |



Grafik 1. MS hastalarında ve kontrol grubunda serum ürik asit düzeyleri

MS grubu genel olarak ve hastalar cinsiyetlere göre ayrıldığında, hastalık süresi ile serum ürik asit

seviyeleri arasında bir ilişki bulunmadı ($p>0.05$). MS grubunda EDSS ile serum ürik asit düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmaz iken, hastalar cinsiyetlere göre ayrıldığında kadın ve erkeklerde, EDSS ile serum ürik asit seviyeleri arasında anlamlı negatif bir ilişki bulundu ($p<0.05$, Tablo 3).

Tablo 3. MS hastalarında EDSS değeri ile ürik asit arasındaki ilişki

| | EDSS | Ürik Asit |
|-------|------|-----------|
| Genel | r | -0.06 |
| | p | >0.05 |
| | N | 206 |
| Erkek | r | -0.27 |
| | p | <0.05 |
| | N | 55 |
| Kadın | r | -0.17 |
| | p | <0.05 |
| | N | 151 |

Klinik alt tiplerine göre, en düşük serum ürik asit düzeyi sırası ile PP-MS, sonra SP-MS ve RR-MS hastalarında bulundu, fakat gruplar arası anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4).

Tablo 4. MS hasta grubunun hastalık alt tipleri ve cinsiyete göre dağılımları, ürik asit seviyeleri

| | K | E | % | Ürik Asit | |
|--------|-----|----|-----|-----------|-----------------|
| RR-MS | 125 | 34 | 159 | 77.18 | 3.76±1.03 mg/dl |
| SP-MS | 21 | 16 | 37 | 17.96 | 3.52±0.93 mg/dl |
| PP-MS | 5 | 5 | 10 | 4.85 | 3.44±1.11 mg/dl |
| Toplam | 151 | 55 | 206 | 100 | |
| F | | | | | 1.16 |
| P | | | | | >0.05 |

Ataklı ve ataksız dönemde izlenen 45 MS hastasının 36'sı RR-MS grubunda (30 K, 6 E) ve 9'u ise SP-MS grubunda (6 K, 3 E) idi. Hastaların atak döneminde EDSS değeri anlamlı yüksek bulunurken ($p<0.0001$), serum ürik asit seviyesi ise anlamlı düşük bulundu ($p<0.0001$, Tablo 5). Kadın ve erkeklerde atak dönemine ait serum ürik asit seviyesi anlamlı düşük saptandı (sırası ile $p<0.0001$ ve $p<0.01$, Tablo 5).

Tablo 5. 45 MS hastasının atak ve ataksız dönemine ait EDSS ve ürik asit değerleri

| | Atak dönemi | Ataksız dönem | t | p |
|------------------|-----------------|-----------------|--------|-----------|
| EDSS (n:45) | 3.24±1.45 | 2.32±1.68 | -10.10 | <0.0001* |
| Ürik Asit (n:45) | 3.28±0.89 mg/dl | 4.10±0.97 mg/dl | 6.82 | <0.0001** |
| Kadın ÜA (n:36) | 3.16±0.87 mg/dl | 3.90±0.89 mg/dl | 5.89 | <0.0001 |
| Erkek ÜA (n:9) | 3.75±0.85 mg/dl | 4.91±0.88 mg/dl | 3.53 | <0.01 |

TARTIŞMA

Peroksinitritin, multipl skleroz ve EAE'nin patogeneğinde major bir faktör olarak belirlenmesi^{6,9,19,27-29} ve güçlü bir peroksinitrit temizleyicisi olan ürik asidin MS'nin hayvan modeli olan EAE'yi baskılaması,^{9,14,17} multipl skleroz hastalığı ile serum ürik asit düzeyleri arasındaki ilişkilere dikkat çekti. Yakın dönemde yapılan çalışmalarda, multipl skleroz hastalarında, serum ürik asit seviyesinin düşük olabileceği ve böylece peroksinitrit aktivitesinin artarak, progresif zedelenmeye neden olabileceği öne sürülmüştür.^{15,21,22} Klinik çalışmalar incelendiğinde, ilk defa 1998'de Hooper ve arkadaşları,⁹ 46 MS hastasında serum ürik asit seviyelerinin, diğer nörolojik hastalığı (DNH) olan kişilere göre anlamlı düşük olduğunu bildirdiler. Bunu takiben yapılan beş klinik çalışmanın üçünde, MS hastalarında serum ürik asit seviyesi, DNH olan veya sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubuna göre, anlamlı olarak düşük bulundu.^{15,21,22,30,31} Bütün bu çalışmalara alınan MS hastaları klinik olarak aynı dönemde değildi. Hastaların yaklaşık yarısı atak döneminde bulunuyordu ve genel gurup ortalaması, hem atak döneminde hem de ataksız dönemde olan hastalardan oluşuyordu. Bizim çalışmamızda ise atak döneminde olmayan, stabil dönemde olan 206 MS hastasının ürik asit değerlerinin belirlenmesi, hastalık aktivitesi açısından homojen olmamızı sağladı. MS hastalarımızda serum ürik asit seviyesinin, genel grup olarak ve hastalar cinsiyetlere göre ayrıldığında, kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunması, endojen bir antioksidan ve peroksinitrit temizleyicisi olan ürik asidin primer olarak düşük bulunabileceğini, MS'ye spesifik bir eksiklik olabileceğini düşündürdü.

Çalışmamızda, MS hasta grubunda, genel olarak ve cinsiyetlere göre bakıldığında, hastalık süresi ile serum ürik asidi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Daha önce yapılan çalışmaların birinde hastalık süresi ile ürik asit arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu,¹⁵ diğer çalışmalarda ise bulunmadığı bildirilmiştir.^{21,22}

MS hastalarının kliniği ile ilgili en önemli gösterge hastaların dizabilitesidir ve tedavide esas amaçlardan

biri de hastaların dizabilitesini azaltabilmektir. Bu çalışmada, MS hastalarında genel grup olarak EDSS ile serum ÜA arasında anlamlı bir ilişki bulunamaz iken, hastalar cinsiyetlere göre ayrıldığında, EDSS ile serum ürik asidi arasında anlamlı, ters bir ilişki bulundu. Son zamanlarda yapılan patoloji ve radyoloji çalışmalarında, plaklarda demyelinizasyonun yanı sıra akson zedelenmesi olduğu ve bunun da klinik dizabilite ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.³²⁻³⁸ Çalışmamızda ürik asit ve klinik dizabilite arasında ortaya çıkan ters ilişki, ürik asidin hastalığın patogenezinde rol alabileceğini ve belki de aksonal zedelenme ile progresyona etki edebileceğini düşündürdü. EDSS ve serum ürik asidi arasındaki ilişkiyi araştıran daha önceki çalışmalarda ise anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.^{15,21}

Çalışmamızda serum ürik asidi sırası ile en düşük PP-MS, sonra SP-MS ve RR-MS hasta grubunda bulundu, ancak değerler arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Primer progresif MS'de hastalığın başlangıcından itibaren klinik bulgular progresse olmaktadır ve serum ÜA seviyesinin bu grupta daha düşük bulunması, bize bu hastalarda primer olarak antioksidan savunmanın yetersiz olabileceğini ve bu durumun progresif zedelenmeye katkı sağlayabileceğini düşündürdü. Daha önce yapılan iki çalışmada,^{15,21} hastalık alt tipleri ile serum ürik asidi arasındaki ilişki incelendiğinde anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Çalışmamıza alınan 206 MS hastasının 45'inde ataksız dönemde bakılan serum ürik asitlerine ek olarak, aynı hastaların atak geçirdikleri dönemde serum ÜA değerleri belirlendi. Atak döneminde EDSS değerlerinin anlamlı olarak arttığı ve ürik asit değerlerinin ise bu dönemde anlamlı olarak azaldığı görüldü. Her iki cinste de atak döneminde serum ürik asit seviyesi, ataksız döneme göre anlamlı düşük bulundu. Bu bulgular, hastalığın klinik aktivitesi ile serum ürik asidi arasında bir ilişki olabileceğini ve peroksinitrit temizleyicisi olan ürik asidin, atak döneminde antioksidan olarak kullanıldığını düşündürdü. Daha önce yapılan çalışmalarda^{15,21,22} MS hastalarının atak döneminde bakılan serum ürik asit seviyesi başka gruplarla karşılaştırılırken (diğer

nörolojik hastalığı bulunan gruplar veya ataksız dönemde olan diğer MS hastalarının değerleri), bizim çalışmamızda ise aynı hastalar kendi içlerinde karşılaştırıldı ve bu durum sonuçların daha güvenilir olması açısından önemliydi.

MS hastalarının tedavisinde ürik asidin veya onun seviyesini artırabilecek ilaçlar ile ilgili yapılan çalışmalarda klinik semptomlarda kısmen düzelleme veya progresyonun olmadığı gözlenmesi, ürik asidin faydalı olabileceği görüşünü öne sürmektedir.^{5,9,10,28,39}

Bizim çalışmamızın sonuçları, multipl skleroz hastalarında ürik asidin primer olarak düşük bulunabileceğini ve atak döneminde endojen bir antioksidan olarak kullanılabilceğini göstermektedir. Düşük ürik asit seviyesi, peroksinitrit aracılığı ile oluşan inflamasyonu, demyelinizasyonu ve belki de aksonal zedelenmeyi artırarak, hastaların dizabilitesinde ilerlemeye neden olabilir. Bu çalışma, yüksek serum ürik asit seviyelerinin, klinik bulgulara olabilecek faydalarının araştırılması gerekliliğine dikkat çekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Miller AE, Lublin FD, Coyle PK. Multiple sclerosis in clinical practice. London: Martin Dunitz; 2003:1-14, 31-53.
2. Rowland PL. Merritt's neurology. Tenth edition. Philadelphia: Lippincott W.W; 2000:773-792.
3. Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Marsden CD. Neurology in clinical practice. Third edition. Boston: Butterworth H.; 2000:1431-1465.
4. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, et al. Axonal Transection in the Lesions of the Multiple Sclerosis. N Engl J Med. 1998;278-85.
5. Koprowski H, Spitsin SV, Hooper DC. Prospects for the treatment of multiple sclerosis by raising serum levels of uric acid, a scavenger of peroxynitrite. Ann Neurol 2001;1:139.
6. Cross AH, Manning PT, Keeling RM, Schmidt RE, Misko TP. Peroxynitrite formation within the central nervous system in active multiple sclerosis. J Neuroimmunol 1998;8:45-56.
7. Hill KE, Zollinger LV, Watt HE, Carlson NG, Rose JW. Inducible nitric oxide synthase in chronic active multiple sclerosis plaques: distribution, cellular expression and association with myelin damage. J Neuroimmunol 2004;6:171-9.
8. Skinner KA, White CR, Patel R, et al. Nitrosation of Uric Acid by Peroxynitrite. J Biol Chem 1998;9:24491-24497.
9. Hooper DC, Spitsin S, Kean RB, Champion JM, Dickson GM, Chaudhry I, et al. Uric acid, a natural scavenger of peroxynitrite, in experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis. Proc Natl Acad Sci USA 1998;1:675-680.

10. Toncev G, Milicic B, Toncev S, Samardzic G. High-dose methylprednisolone therapy in multiple sclerosis increases serum uric acid levels. *Clin Chem Lab Med* 2002;5:505-8.
11. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical chemistry. Third edition. Philadelphia: W.B. Saunders; 1999:1245-1250.
12. Becker BF. Towards the physiological function of uric acid. *Free Radical Biol Med* 1993;6:615-631.
13. Waring WS, Webb DJ, Maxwell SR. Systemic uric acid administration increases serum antioxidant capacity in healthy volunteers. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;9:365-371.
14. Spitsin SV, Scott GS, Kean RB, Mikheeva T, Hooper DC. Protection of myelin basic protein immunized mice from free-radical mediated inflammatory cell invasion of the central nervous system by the natural peroxynitrite scavenger uric acid. *Neurosci Lett* 2000;10:137-41.
15. Drulovic J, Dujmovic I, Stojavljevic N, et al. Uric acid levels in sera from patients with multiple sclerosis. *J Neurol* 2001;2:121-6.
16. Spitsin SV, Scott GS, Mikheeva T, et al. Comparison of uric acid and ascorbic acid in protection against EAE. *Free Radic Biol Med* 2002;11:1363-71.
17. Hooper DC, Bagasra O, Marini JC, Zborek A, Ohnishi ST, Kean R, et al. Prevention of experimental allergic encephalomyelitis by targeting nitric oxide and peroxynitrite: Implications for the treatment of multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997;3:2528-2533.
18. Hooper DC, Scott GS, Zborek A, Mikheeva T, Kean RB, Koprowski H, et al. Uric acid, a peroxynitrite scavenger, inhibits CNS inflammation, blood-CNS barrier permeability changes, and tissue damage in a mouse model of multiple sclerosis. *The FASEB Journal.* 2000;14:691-698.
19. Kean RB, Spitsin SV, Mikheeva T, Scott GS, Hooper DC. The Peroxynitrite Scavenger Uric Acid Prevents Inflammatory Cell Invasion into the Central Nervous System in Experimental Allergic Encephalomyelitis through Maintenance of Blood-Central Nervous System Barrier Integrity. *The Journal of Immunology* 2000;165:6511-6518.
20. Scott GS, Spitsin SV, Kean RB, Mikheeva T, Koprowski H, Hooper DC. Therapeutic intervention in experimental allergic encephalomyelitis by administration of uric acid precursors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002;12:16303-16308.
21. Sotgiu S, Pugliatti M, Sanna A, et al. Serum uric acid and multiple sclerosis. *Neurol Sci* 2002;10:183-8.
22. Toncev G, Milicic B, Toncev S, Samardzic G. Serum uric acid levels in multiple sclerosis patients correlate with activity of disease and blood-brain barrier dysfunction. *Eur J Neurol* 2002;5:221-226.
23. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 1983;13:227-231.
24. Langford HG, Blaufox MD, Borhani NO, et al. Is thiazide-produced uric acid elevation harmful? Analysis of data from the Hypertension Detection and Follow-up Program. *Arch Intern Med.* 1987;4:645-9.
25. Jelic-Ivanovic Z, Spasic S, Majkic-Singh N, Todorovic P. Effects of some anti-inflammatory drugs on 12 blood constituents: protocol for the study of in vivo effects of drugs. *Clin Chem.* 1985;7:1141-3.
26. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983;33:1444-1452.
27. Smith KJ, Kapoor R, Felts PA. Demyelination: The role of reactive oxygen and nitrogen species. *Brain Pathol* 1999;9:69-92.
28. Spitsin S, Hooper DC, Leist T, Streletz LJ, Mikheeva T, Koprowski H. Inactivation of peroxynitrite in multiple sclerosis patients after oral administration of inosine may suggest possible approaches to therapy of the disease. *Mult Scler* 2001;10:313-9.
29. Touil T, Deloire-Grassin MS, Vital C, Petry KG, Brochet B. In vivo damage of CNS myelin and axons induced by peroxynitrite. *Neuroreport* 2001;11:3637-44.
30. Karg E, Klivenyi P, Nemeth I, et al. Nonenzymatic antioxidants of blood in multiple sclerosis. *J Neurol* 1999;7:533-539.
31. Spitsin S, Hooper DC, Mikheeva T, Koprowski H. Uric acid levels in patients with multiple sclerosis: analysis in mono- and dizygotic twins. *Mult Scler* 2001;6:165-6.
32. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, et al. Axonal Transection in the Lesions of the Multiple Sclerosis. *N Engl J Med.* 1998;338:278-85.
33. Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH. Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 1997;120:393-399.
34. Kuhlmann T, Lingfeld G, Bitsch A, Schuchardt J, Brück W. Acute axonal damage in multiple sclerosis is most extensive in early disease stages and decreases over time. *Brain* 2002;125:2202-2212.
35. Bitsch A, Schuchardt J, Bunkowski S, Kuhlmann T, Brück W. Acute axonal injury in multiple sclerosis: correlation with demyelination and inflammation. *Brain* 2000;123:1174-1183.
36. Truyen L, van Waesberghe JH, van Walderveen MA, van Oosten BW, Polman CH, Hommes OR, Ader HJ, Barkhof F. Accumulation of hypointense lesions ("black holes") on T1 spin-echo MRI correlates with disease progression in multiple sclerosis. *Neurology* 1996;47:1469-76.
37. Barkhof F, Karas GB, van Walderveen MA. T1 hypointensities and axonal loss. *Neuroimaging Clin N Am* 2000;10:739-52.
38. Bitsch A, Kuhlmann T, Stadelmann C, Lassmann H, Lucchinetti C, Bruck W. A longitudinal MRI study of histopathologically defined hypointense multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2001;49:793-6.
39. Constantinescu CS, Freitag P, Kappos L. Increase in serum levels of uric acid, an endogenous antioxidant, under treatment with glatiramer acetate for multiple sclerosis. *Mult Scler* 2000;12:378-381.