

115026



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA İNTERFERON –  $\beta$ 1b  
TEDAVİSİNİN SİTOKİNLER ÜZERİNDE OLUŞTURDUĞU  
ETKİLER**

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

995 026

Dr. MELİHA GÜLERYÜZ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. DİLEK İNCE - GÜNAL

İSTANBUL , 2002

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
<b>1.Giriş ve amaç</b>	1
<b>2.Genel bilgiler</b>	3
2.1. Tanım	3
2.2. Klinik bilgiler	3
2.3. Tarihçe	4
2.4. Epidemiyoloji	5
2.5. Etyoloji	6
2.6. Patoloji	6
2.7. Patofizyoloji	8
2.7.a. Normal merkezi sinir sistem histolojisi	11
2.7.b. MS hastalığının immünolojisi	11
2.7.c. MS otoimmün bir hastalıkmıdır	12
2.7.I. Stokinlerin özellikleri	13
2.7.II. MS'de sitokinler	16
2.8. MS hastalığının tedavisi	18
2.8.a. IFN $\beta$ nasıl etki gösterir	19
2.8.b. IFN $\beta$ ve sitokinler	19
<b>3. Materyal ve metod</b>	21
3.1. Hastalar	21
3.2. Örnekler	22
3.3. Sitokinlerin çalışılması	22
3.4. İstatistik	23
<b>4. Bulgular</b>	24
4.1. TNF $\alpha$ Düzeyleri	24
4.2. IL-10 Düzeyleri	26
4.3. IL-12 Düzeyleri	27
<b>5. Tartışma</b>	31
<b>6. Özet</b>	34
<b>7. Kaynaklar</b>	35

## ŞEKİLLER

Sayfa no

<b>Şekil 1:</b> MS patogenezinde demyelinizasyon ve aksonal kayıba gidişte yer alan önemli basamaklar	7
<b>Şekil 2:</b> Perivasküler inflamasyon ve myelin destrüksiyonu	10
<b>Şekil 3:</b> Patogeneizde etki gösteren hücre ve moleküller	18



## TABLÖLAR

	Sayfa no
<b>Tablo 1:</b> Önemli sitokinlerin üretildikleri ve etki gösterdikleri hücreler	15
<b>Tablo 2:</b> Çalışmaya alınan hastaların özellikleri	22
<b>Tablo 3:</b> Serum TNF $\alpha$ düzeyleri	25
<b>Tablo 4:</b> BOS TNF $\alpha$ düzeyleri	25
<b>Tablo 5:</b> Serum IL-10 düzeyleri	26
<b>Tablo 6:</b> BOS IL-10 düzeyleri	26
<b>Tablo 7:</b> Serum IL-12 düzeyleri	27
<b>Tablo 8:</b> BOS IL-12 düzeyleri	27

## GRAFİKLER

Sayfa no

<b>Grafik 1:</b> Serum TNF-alfa düzeyleri	28
<b>Grafik 2:</b> BOS TNF-alfa düzeyleri	28
<b>Grafik 3:</b> Serum IL-10 değerleri	29
<b>Grafik 4:</b> BOS IL-10 düzeyleri	29
<b>Grafik 5:</b> Serum IL-12 düzeyleri	30
<b>Grafik 6:</b> BOS IL-12 düzeyleri	30

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

İlk kez tanımlandığı 19. yüzyılın ilk yarısından bu yana çeşitli yönleri ile yoğun biçimde araştırılmasına karşın, multipl skleroz (MS)'un etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır (1-3).

Son dönemlerde hastalığın etyopatogenezinde sistemik sitokin ağındaki değişikliklerin varlığı tartışılmaktadır (4-10). MS'in hayvan modellerinde, T helper (Th)-1 tip sitokin hastalığı olduğu; ve bu tabloya karşı Th-2 tip sitokinlerin aktif hale geldiği rapor edilmiştir (6).

Yapılan çok sayıda çalışmada MS'de Th-1/Th-2 tip sitokin dengesinde değişikliklerin olduğu gösterilmiştir. Serum ve BOS tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) düzeylerinin hastalık aktivitesi ve disabilitesi ile orantılı olduğu gözlenmiştir (11-13). Bu verilerin aksine IL-10 düzeyleri ise relaps sonrası dönemde ve remisyonda yüksek bulunmuştur (8,14). Correale ve arkadaşları, relaps döneminde izole edilen T hücre klonlarının daha çok tip-1 sitokin profiline sahip olduğunu gözlemişlerdir (15).

Yaklaşık son on yıldır interferon- $\beta$  (INF-  $\beta$ ) tedavisinin, MS 'in *relapsing remitting* (RR) formunda atak sıklığını ve şiddetini azalttığı bilinmektedir (16,17). INF- $\beta$  'nın bilinen bu olumlu etkilerine rağmen; ilacın hangi yollarla etkisini gösterdiği henüz tümüyle bilinmemektedir. Bu konuda yapılan çok sayıda çalışmada, sitokinler üzerinde etkileri olduğu rapor edilmiştir. Bu konudaki veriler tedavi ile anti-inflamatuar sitokinler etkin hale gelirken; hastalıkta aktif olan pro-inflamatuar sitokinlerin baskılandığı yönündedir (18,19).

Bu çalışmada INF  $\beta$  tedavisi alan ve almayan relapsing remitting (RR) tip MS hastalarında beyin omurilik sıvısında (BOS) ve serumda pro-inflamatuar

sitokinlerden TNF- $\alpha$  ve IL-12, anti-inflamatuar sitokinlerden ise IL-10 düzeylerinin etkilenimine ve zaman içindeki değişimine bakıldı. Yapılan çalışmalarda IFN- $\beta$  ile Th-2 tip sitokinler artarken, Th-1 tip sitokinlerin baskılandığı gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda bu etkinin BOS ve serumdaki değişkenliğinin ve ne zaman ortaya çıktığının tespit edilmesi planlandı. Daha önce yapılan çalışmalarda daha çok serum örneklerine bakılmıştır. Bu çalışma MS hastalarından IFN- $\beta$  'nın serum ile birlikte BOS'da sitokinler üzerindeki etkisini değerlendirmek açısından önem taşımaktadır.





## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tanım:

Multipl skleroz (MS), çoğunlukla genç erişkin yaşta (20-40) başlayan; yineleyen nörolojik fonksiyon bozukluklarıyla seyreden, etyolojisinin bütünüyle açıklanamadığı kronik, inflamatuvar, demyelinizan bir merkezi sinir sistem (MSS) hastalığıdır.

Hastalık, İngilizler tarafından “*disseminated sclerosis*”, Fransızlar tarafından ise “*sclerose en plaques*” olarak ifade edilmekte olup; nörolojik hastalıklar içinde azımsanmayacak sıklıkta görülmesi, seyrinin kronik olması ve genç yetişkin yaş grubunu etkilemesi nedeni ile önemli yer tutmaktadır (20). Morbiditesi oldukça yüksektir, bu nedenle gelişmiş ülkelerde genç yaş grubunda en sık gözlenen nörolojik disabilite nedenidir (21). MS hastalığı kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülür.

### 2.2. Klinik Bulgular:

Hastalığın başlangıcından itibaren olguların %80’inde, hastalık relapslar ile seyreder; fakat 10 yıl sonra %50’si ataklar ile birlikte veya atak olmaksızın defisitler eklenerek zaman içinde artması olarak tanımlanan; “*sekonder progressif*” forma geçer. Bir grup hastada ise (%10) hastalık başlangıcından itibaren progressif bulgular ile seyreder; “*primèr progressif*” tip MS olarak adlandırılan bu gidiş daha çok ileri yaşlarda ortaya çıkar ve erkeklerde sık gözlenir (22).

Hastalığın bulguları demiyelinizan fokusun lokalizasyon ve büyüklüğündeki farklılığa bağlı olarak değişkenlik göstermekte olup; aynı dönemde değişik sistemleri etkileyebilir. MS'de gözlenen klasik bulgular, motor kayıp, görme bozukluğu, diplopi, parestezi, disestezi, nistagmus, disartri, tremor, ataksi, derin duyu kaybı, mesane disfonksiyonu, ve duyu durumunda değişikliklerdir (20). Hastaların yaklaşık %50'si, hastalığın tanısını almalarından itibaren 15 yıl içinde tekerlekli sandalyeye bağımlı hale gelirler. MS hastalığında disabilite miyelin ve akson destrüksiyonu ve tamir mekanizmasının bozuk olmasından kaynaklanmaktadır (22).

Hastalığın tanısı standart kriterlere göre klinik bulgulara dayanılarak konulur (23). Beyin omurilik sıvısı (BOS) incelemeleri, uyarılmış potansiyeller ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) bulguları ile klinik tanı desteklenir.

### **2.3. MS Hastalığının Tarihçesi:**

Hastalığın patolojik tanımını ilk kez Cruveilhier 1835 yılında yapmıştır (Wyann DR,1990). 20. yy'ın başlarında, hastalığın nedenleri konusunda çeşitli fikirler ortaya çıkmaya başlamış olup; son 50 yıldır hastalıkta oluşan doku hasarının mekanizması ve tedavisi konusunda çalışmalar yapılmaktadır. Carswell (1838) ve Cruveilhier (1841)'in hastalık konusundaki araştırmaları daha sonra Charcot'un (1868,1880) daha detaylı patolojik ve klinik çalışmaları ile ilerletilmiştir. Hastalık hakkındaki tüm veriler ilk defa Dejong tarafından bir araya getirilmiştir (1970) (24).

Charcot, 1865 yılında hastalığın belirti ve bulgularını bildirmiş, primer patolojik sürecin miyelinin seçici yıkımı ile ortaya çıktığını ve demiyelinizasyon

alanında glial nedbe, bir başka deyişle “skleroz” oluştuğunu göstermiş ve antiteyi “*sclerose en plaques*” olarak adlandırmıştır.

#### 2.4. Epidemiyoloji:

Multipl skleroz hastalığı kadınlarda, beyaz ırkta, ılıman ve soğuk iklim kuşağında yaşayanlarda, ailesinde MS’li birey bulunanlarda ve sosyo ekonomik düzeyi gelişmiş toplumlarda daha sık görüldüğü düşünülmektedir (25).

Olguların 2/3’ü 20-40 yaş arasında başlar. Yaşla ilgili insidans araştırıldığında, başlangıç riskinin puberteden hemen sonra ortaya çıktığı, 30 yaşına doğru hızla arttığı ve 6. dekattan sonra belirgin olarak azaldığı saptanmıştır (3).

Ekvator bölgelerinde hastalığın prevalansı 100,000’de 1’den azdır; Amerika ve Avrupa’nın güney bölgelerinde 100,000’de 6-14 iken; bu rakam Kanada, Avrupa ve Amerika’nın kuzey bölgelerinde 100,000’de 30-80’e ulaşır. Kurtzke ve arkadaşları (25) hastalığın Amerika’da beyaz ırkta, Afrika kökenli olanlara oranla daha sık görüldüğünü; ancak her iki ırkta da kuzeyde yaşayanların daha fazla risk altında olduğunu tesbit etmişlerdir (20).

Bir çok çalışmada yüksek riskli bölgeden düşük riskli bölgeye göç eden kişilerin hastalık riskini taşıdıklarını ancak, göçten sonraki ilk 20 yıl içinde hastalığın ortaya çıkmadığı rapor edilmiştir (20) . Hastalığın ortaya çıkma riski kişinin göç sırasındaki yaşına bağlı değişiklik göstermektedir. Dean ve Kurtzke (25,26) 15 yaş öncesinde kuzey bölgelerden güney bölgelere göç eden kişilerde, riskin güney bölge halkı gibi olduğunu, 15 yaş sonrası için ise doğdukları bölgenin riskini taşıdıklarını tesbit etmişlerdir.

Bunların yanı sıra, bazı ailelerde hastalığın yoğun görüldüğü bildirilmiştir. MS hastalarının yaklaşık %15'inde akrabaları arasında MS hastası olup bu oran ikizlerde artmaktadır. Tek yumurta ikizlerinde çift yumurta ikizlerine oranla hastalığın ortaya çıkma riski 2-3 kat daha fazladır (27).

### **2.5. Etyoloji:**

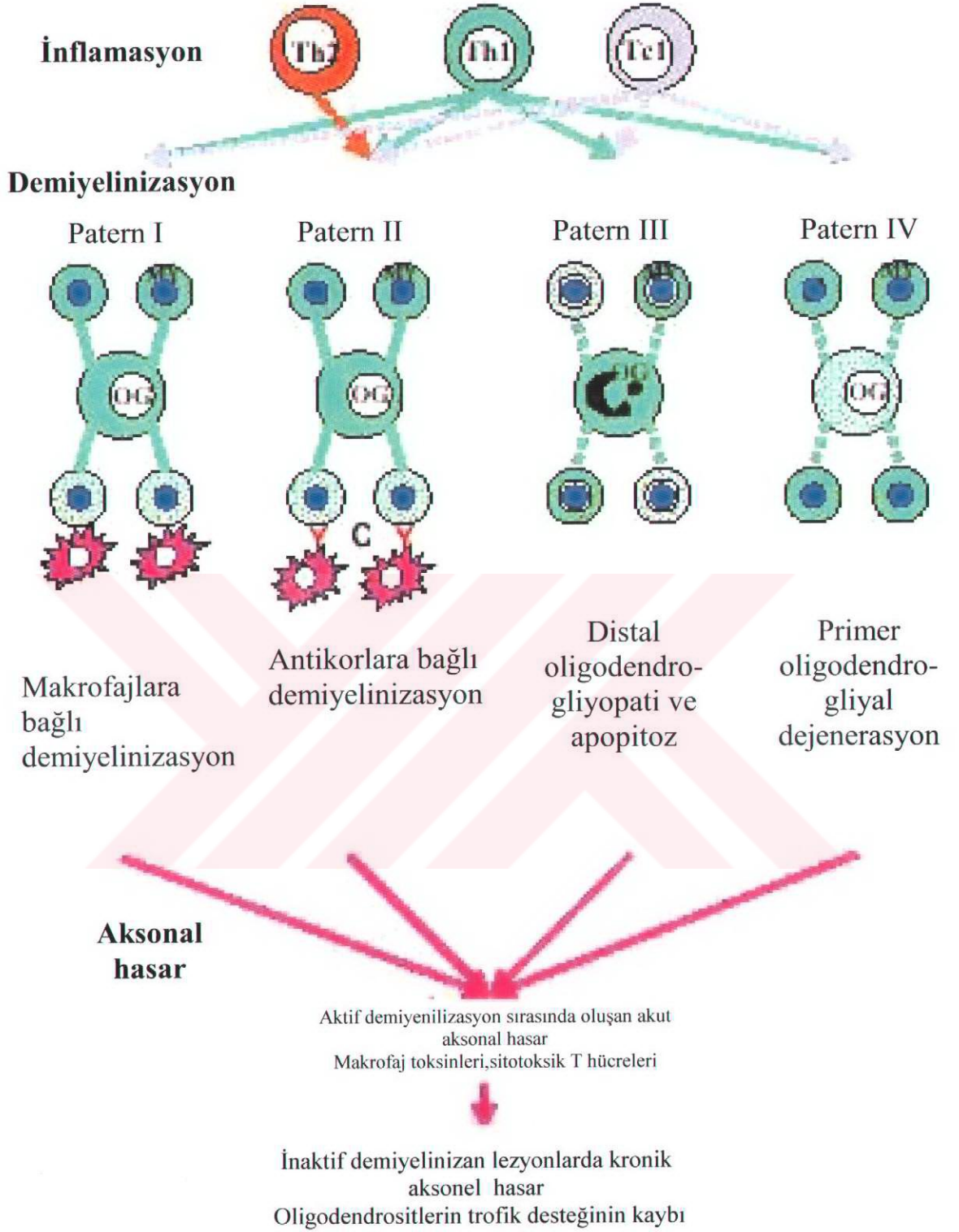
Etyolojisi henüz bilinmemekle birlikte, halen üzerinde çalışılmakta olan farklı hipotezler mevcuttur. Eldeki verilerin ışığında, MS'in otoimmün kökenli bir hastalık olduğu yönündeki hipotez kuvvet kazanmıştır. Ancak tanımlanan bu immunolojik fenomenlerin hastalıktaki primer olay mı, yoksa diğer bir sürece sekonder gelişen bulgular mı olduğu henüz tümüyle açıklığa kavuşmamıştır (28).

Genetik çalışmalar sonucunda poligenik kalıtım rapor edilmektedir. Çevresel faktörlerin de etyolojide önemli rolü vardır. Yatkın kişilerde otoimmün aktivite başlamakta ve sonuçta MSS'de sınırlı, kalıcı olabilecek demyelinizan lezyonlar oluşmaktadır (29).

### **2.6. MS Lezyonlarının Patolojisi:**

MS hastalığına özel temel patolojik bulgu, multifokal demyelinizan plakların varlığıdır. Boyutları 1mm ile 4cm arasında değişen bu lezyonlar, beyin ve spinal kordun myelin içeren bölümlerinde lokalize olup; astrositozis ve skar oluşumu ile karakterizedir (şekil 1). Bazı lezyonlarda demyelinizasyonun ardından remyelinizasyon safhası gelir ve bu oluşumlar "*shadow plaques*" olarak ifade edilir. Demyelinizasyon ve skar oluşumunun yanı sıra MS lezyonlarında akson kaybı da olmaktadır (30).

## Multiple Skleroz Hastalığının Patofizyolojisi



**Şekil 1:** MS patogenezinde demiyelinizasyon ve aksonal kayıba gidişte yer alan önemli basamaklar.

MS lezyonlarının inflamatuvar hücreler tarafından infiltrasyonu en karakteristik patolojik bulgusudur. Lezyonlarda en sık bulunan inflamatuvar hücreler T hücreleri ve makrofajlar/mikroglial hücrelerdir. Plasma hücreleri de bulunabilir, ancak B hücreleri seyrekdir. MS lezyonlarını üç gruba ayırmak mümkündür: 1) aktif (demyelinizan) lezyonlar-hiperselüler; 2) kronik aktif lezyonlar-hiposelüler merkez ve hiperselüler çevre; ve 3) kronik inaktif lezyonlar -hiposelüler (31).

MS lezyonlarının bahsedilen bu değişkenliğinin farklı hastalık süreçleri olması veya farklı tetikleyici faktörlere bağlı olabileceğini düşündürmektedir (32).

### **2.7.Patofizyolojisi:**

Hastalığın patofizyolojisi konusunda yapılan bir çok çalışmada, hastalığın T-hücrelerinin kontrol ettiği otoimmün bir hastalık olduğu ortak kanısına varılmıştır.

Intratekal inflamasyondan dolaşımda bulunan T hücreleri ve monositlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir (33). Bu kan kökenli T hücreleri ve monosit/makrofajlar MS'de karakteristik olan perivasküler infiltrasyondaki temel hücreleri oluşturmaktadır (34).

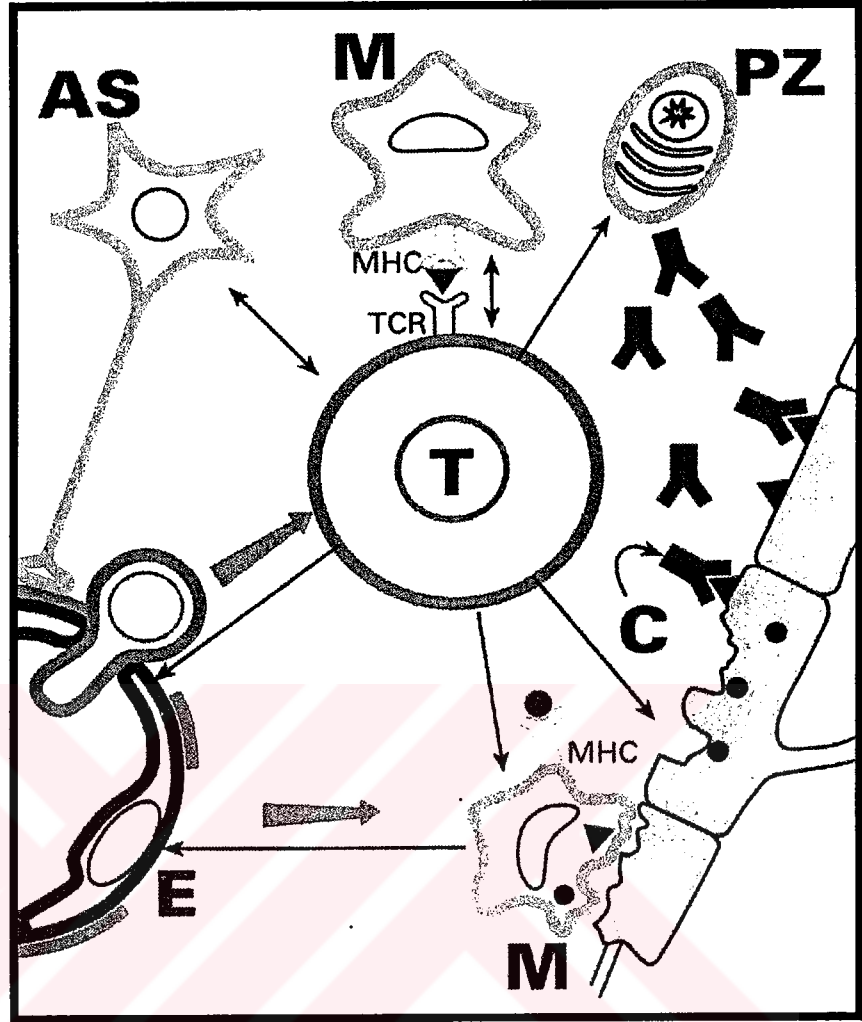
Başlangıçta periferdeki T lenfositleri aktif hale getirilmektedir; bu hücreler dolaşımdaki diğer T lenfositleri ile birlikte kan-beyin bariyerini geçerler. Beyin parenkimindeki perivasküler alanda hedef self-antijenler ile karşılaşılırlar. Hedef self-antijenler, perivasküler makrofaj ve mikroglialar tarafından T-hücre reseptörleri için hazırlanırlar. Bu aktivite fokal MSS enfeksiyonunun başlangıcıdır (Şekil 2).

Bu sırada sitokin ekspresyonunda bir takım değişikliklerin olduğu yapılan araştırmalarda gösterilmiştir (35). Sitokin üretimi dolaşımdaki lenfositlerde ve kan-beyin bariyerindeki endotelde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır.

Adezyon molekülleri inflamatuvar hücrelerin beyin parenkimine migrasyonunu ve bağlanmasını artırıcı etki gösterirler; böylece perivasküler hipersellüler infiltrasyon oluşur (34).

Bu aktiviteler ile birlikte değişik mekanizmaların da devreye girmesi ile oligodendrosit ve myelin hasarı da meydana gelir. Hayvan modellerinde oligodendrosit ve myelin yüzey içeriklerine karşı oluşan antikörlerin hasarın oluşmasında; komplement aktivasyonunda; makrofaj veya mikroglia saldırısında önemli rolleri olduğu gösterilmiştir (36,37). T-hücreleri ve mikrogliaların salgıladıkları sitotoksik sitokinler, enzimler ve oksijen radikalleri ile birlikte myelin hasarında rol alırlar (37). Hasar gören myelin kılıfı daha sonra mikroglia tarafından ortadan kaldırılır. Astrositler hasarlı doku içine girer, büyür ve muhtemelen çoğalır; ardından klasik gliyotik oligodendrositopenik demyelinizan plak oluşur (34).





Şekil 2: Perivasküler inflamasyon ve myelin destrüksiyonu

T: T hücresi; E: endotel hücresi; M: mikroglia; AS: astrosit; PZ: plazma hücresi; C:komplement; MHC: majör histokompatie kompleksi; TCR: antijene özel T hücre reseptörü.



### 2.7.a. Normal MSS Histolojisi:

MSS sağlıklı bireyde lökosit içermemekte olup, rejenerasyon kapasitesi oldukça kısıtlıdır. Anatomik izolasyonu sağlayan kan-beyin bariyerinin varlığı ve aşikar lenfatik drenajın olmaması; MSS'de inflamatuvar aktivitenin nasıl başladığının anlaşılmasını güçleştirmektedir (38).

- Nöronlar, MSS'nin en önemli komponentidirler. Gri cevher nöronların hücre gövdelerinden, beyaz cevher ise myelin ile kaplı sinir liflerinden oluşur (aksonlar) (32).

- Oligodendrositler, MSS'de aksonların myelinizasyonundan sorumludurlar.

- Astrositler, MSS'de nöron ve diğer hücrelerin striktürel destek yapısını oluştururlar. Aynı zamanda MSS'de hasar oluştuğunda replikasyon ve skar dokusu oluşumu ile hasarlı dokunun tamirinden sorumludurlar. Bu işlem gliozis veya sklerozis olarak bilinir.

### 2.7.b. MS Hastalığının İmmunolojisi:

Yıllardır yapılan histopatolojik çalışmalar ve son dönemlerde ilerlemiş MRG teknolojisine rağmen halen MS lezyonları tam olarak açıklanamamıştır. Lezyon oluşumunun nasıl başladığı, zamanla bu lezyonların nasıl değiştiği, klinik bulgular ve hastalığın aktivitesini gösteren diğer veriler ile ilişkisi, tedavi yaklaşımlarının mekanizması henüz tamamı ile bilinmemektedir. MS lezyonları tedavi yöntemlerinin hedefini oluşturmaktadır. Bu nedenle lezyonların patofizyolojisinin anlaşılması hastalığın klinik ve paraklinik ilişkilerinin tesbiti ve tedavi yaklaşımları açısından önem taşımaktadır (21,39).

### 2.7.c. MS Otoimmün Bir Hastalık mıdır?

Yapılan bir çok çalışma sonucunda MS hastalığının patolojisinde immün sistemin rol oynadığı bilinmektedir. MS lezyonlarında inflamatuvar reaksiyonların varlığı; diğer otoimmün hastalıklarda olduğu gibi, sitokinler, adezyon molekülleri ve kemokinlerin hastalığın başlangıcı ve progresinde görevleri olduğu gösterilmiştir (32).

Kadınlarda fazla görülmesi, başlangıç yaşı, gebelik ile olan ilişkisi, relaps ve remisyonlar ile seyretmesi diğer otoimmün hastalıklar ile benzerlik göstermektedir.

#### MS immunopatolojisinin anlaşılmasında önemli hücre tipleri:

MS immunopatolojisinin anlaşılmasında önemli olan hücre tipleri T-lenfositler, B-lenfositler, monositler ve makrofajlardır. Önemli moleküller ise antikorlar, komplemanlar, belli sitokinler ve insan lökosit antijenleridir (HLA).

•T-lenfositleri spesifik antijenleri tanırlar ve bu antijen sunulana kadar inaktif halde kalırlar. Daha sonra, T-lenfositleri aktif hale gelir ve çoğalırlar.

T-lenfositlerin bir çok fonksiyonu vardır. Bunlar sitotoksik, helper ve suppresör rollerdir. Sitotoksik T- lenfositleri kimyasal yolla antijenleri taşıyan hücrelere saldırırlar. T-helper hücreleri, B lenfositleri ile birlikte, makrofaj aktivasyonu ve antikor üretiminde görevlidirler. T-suppresör hücreleri ise immün cevabı engelleyerek immün hücreleri kontrol ederler.

•B-lenfositler ise her biri belli antijeni'ni tanıyarak bu antijene'e özel antikor üretiminde görevlidirler. Bu antikor, antijeneg'e bağlandığında makrofajın aktivasyonu, fagositoz ve kompleman aktivasyonu gerçekleşir.

- Komplemanlar serum protein serisidir. Belli durumlarda, komplemanlar hücre duvarında bir araya gelirler. Böylece makrofaj hücreyi tanır; hücre membranı üzerinde delikler oluşur;  $Ca^{++}$  inflaksı ve sonrasında hücre ölümü gerçekleşir.

- MHC (majör histokompabilite hücreleri) genleri HLA molekülü olarak adlandırılan proteinleri kodlarlar. HLA, selfantijendir ve normalde sadece lenforetiküler sistem hücrelerinde bulunur; T hücrelerinin bazı antijenleri tanımada rol oynar.

Vücutta kendi yapılarına karşı reaksiyon verme potansiyeline sahip lenfositler vardır. Ancak, immün saldırının olması için hedef antijenlerin antijen sunucu hücreler (APC) tarafından prezente edilmesi gerekir. T- lenfositlere sunulması için antijen, APC yüzeyinde HLA molekülüne bağlı olmalıdır.

- Sitokinler

Sitokinler çözünebilir ekstraselüler proteinler veya glikoproteinler olup; nonspesifik ve immunolojik inflamatuvar reaksiyonlarda görev alırlar. Hücre büyümesinde, değişiminde ve doku tamirinde aktivite gösterirler.

Sitokin üretimi antijen, endotoksin veya diğer sitokinler tarafından oluşturulan lokal stimuluslar ile gerçekleşir ve üretilen sitokin miktarları oldukça düşüktür.

### **I-Sitokinlerin Özellikleri:**

1-Sitokini üreten hücrede ve/veya komşu hücreler üzerinde etki gösterebilir (“*Autocrine/ paracrine*”).

2-Biyolojik etkileri farklı hedef hücrelerde, farklı olabilir (“*pleotropy*”).

3-Değişik sitokinler benzer etki gösterebilir (“*redundancy*”).

4-Bir sitokin diğerk sitokinin aktivitesini arttırıcı veya engelleyici etki gösterebilir (sinerjistik ve antagonistik etki).

5-Bir sitokin diğerk bir sitokinin üretimini arttırıcı veya engelleyici etki gösterebilir (“*cytokine network*”).

Sitokinler immün yanıtın başlangıç safhasından, tamamlandığı safhaya kadar tüm basamaklarında görev alırlar.

CD4+ *helper* hücreleri ürettikleri sitokinlere göre Th-1 ve Th2-tip hücreler şeklinde sınıflandırılırlar (40). Benzer fonksiyonel sınıflandırma CD8+ sitotoksik T hücreleri için de yapılmıştır (CD8+ T1 ve CD8+ T2 hücreleri) (41). Th1-tip hücreleri yüksek miktarlarda interlökin (IL-2), TNF- $\alpha$  ve interferon- $\gamma$  (IF- $\gamma$ ) üretmekte olup; makrofaj aktivasyonu, antikora bağlı hücre sitotoksitesisi, ve gecikmiş tip hipersensitivitenin başlangıç safhasında görevlidirler (42). Th2-tip hücreler ise IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 üretirken; ekstrasellüler patojene karşı humoral immün yanıtı başlatırlar. Ancak IL-12, IL-10 gibi bazı sitokinler bu klasifikasyonun dışında kalmaktadır. IL-10’un hem Th-1 hem de Th-2 tip hücreler tarafından salgılandığı bilinmektedir.

Diğerk bir sınıflandırma ise sitokinlerin hücreselel immünite üzerindeki etkilerine göre yapılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre sitokinler pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokinler olarak yine 2 grupta incelenirler:

Pro-inflamatuar sitokinler: Hücreselel immünitenin başlangıç safhasında tetikleyici etkisi olan sitokinlerdir ( IF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , IL-2, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18).

Anti-inflamatuar sitokinler: Hücresel immün yanıtı olumsuz yönde etkileyen sitokinlerdir (IL-4, IL-6, IL-10 ve IL-13).

Yapılan bu sınıflamaya rağmen, hemen hemen tüm anti-inflamatuar sitokinlerin aynı zamanda pro-inflamatuar etkileri de vardır. Benzer durum pro-inflamatuar sitokinler için de geçerlidir.

Sitokinler değişik hücreler tarafından salgılanmakta olup uygun reseptörü olan hücreler üzerinde aktivite gösterirler (Tablo1). Sağlıklı bireyde, pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokinler arasında sürekli bir denge vardır. Otoimmün hastalıklarda bu denge, anti-inflamatuar sitokinlerin az salgılanması ve buna bağlı olarak pro-inflamatuar sitokinlerin baskın hale gelmesi yönünde bozulur. Anti-inflamatuar sitokinlerin konsantrasyonu yetersiz olduğunda inflammatuar reaksiyon artar.

**Tablo 1**

Önemli sitokinlerin üretildikleri ve etki gösterdikleri hücreler

Sitokin	Sitokini üreten hücre	Sitokini etki gösterdiği hücre
IF- $\gamma$	T hücreleri, NK hücreler	T hücreleri, monosit/makrofajlar, diğer hücre tipleri
TNF- $\alpha$	monosit/makrofajlar, T hücreleri, B hücreleri	T hücreleri, B hücreleri, monosit/makrofajlar, diğer hücre tipleri
IL-6	T hücreleri, B hücreleri, monosit/makrofajlar, dendritik hücreler	B hücreleri, T hücreleri monosit/makrofajlar
IL-10	T hücreleri, B hücreleri, monosit/makrofajlar dendritik hücreler	T hücreleri, NK hücreler, B hücreleri, monosit/makrofajlar dendritik hücreler
IL-12	monosit/makrofajlar	T hücreleri, NK hücreler

NK: "natural killer cell"

### **II-MS'de Sitokinler:**

MS'in patogenezinde son dönemlerdeki çalışmalar, myelin spesifik hücrelerce salgılanan proinflamatuvar sitokinlerin rolü üzerine yoğunlaşmıştır.

Kanda sitokinler: MS'de kanda oluşan immün yanıt önemlidir, kan beyin bariyeri bozulmadan önce immün hücrelerin periferde aktive olduğu düşünülmektedir.

*IL-12:* Kovelant bağla bağlı iki subünitten oluşmaktadır, bunlar: p35 ve p40. IL-12 proinflamatuvar tip reaksiyonu sağlar, T hücrelerinin ve NK ("natural killer") hücrelerinin IFN- $\gamma$  üretimine neden olur. MS hastalarında değişken sonuçlar alınmasına rağmen, IL-12 p40 mRNA üretimi artar (43).

*IFN $\gamma$ :* MS hastalarına IFN- $\gamma$  verildiğinde hastalığın kötüleştiği gösterilmiştir (44). Pro-inflamatuar etkisi vardır, diğer pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini artırır. MS hastalarında IFN- $\gamma$  düzeyinin yüksek olduğu gösterilmiştir (45). Başka bir çalışmada düzeyin değişmediği gözlenmiştir (46).

*TNF- $\alpha$ :* Etkin bir pro-inflamatuar sitokindir. MS hastalarında kontrol grubuna göre TNF- $\alpha$  düzeylerinin yüksek olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir (45-47). Franciotta ve arkadaşları (48), MS hastalarında hem serumda hem de BOS'da TNF- $\alpha$  düzeylerini yüksek bulmuşlardır. Vilaroyya ve arkadaşları (49) MS hastalarında semptom ağırlığı ile TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

*IL-6:* Pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar etkileri vardır (50). TNF- $\alpha$  üretimini engeller (51). MS hastalarında plasma IL-6 mRNA salgılayan kan mononükleer hücrelerde artış bildirilmiştir (4,47,). Ancak Padberg ve arkadaşları (52) MS hastalarında IL-6 düzeylerinde fark olmadığını bildirmişlerdir.

*IL-10*: İnsan immün sistemindeki en etkin anti-inflamatuar sitokindir. Pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini engeller. Navikas ve arkadaşları (47) MS hastalarında IL-10 mRNA ekspresyonu yapan mononükleer hücrelerde artış bildirmişlerdir.

#### *BOS'da sitokinler*

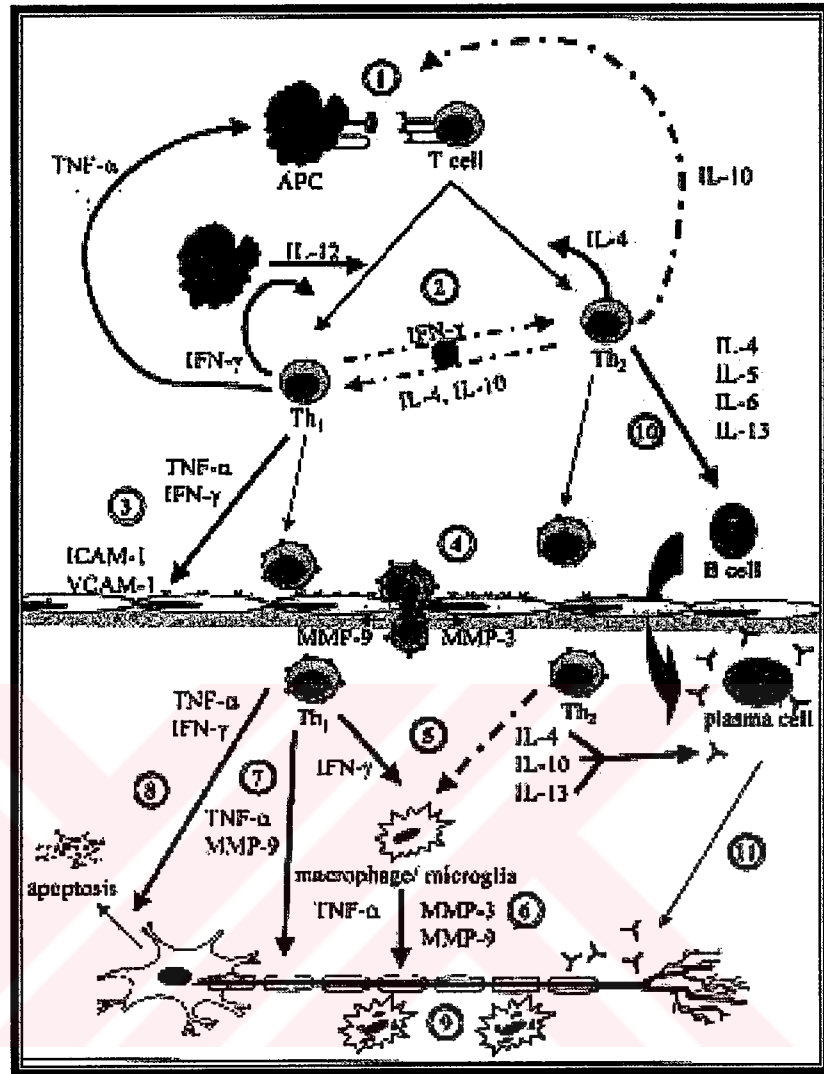
BOS sitokin düzeyleri konusunda yapılan çalışmalarda değişik sonuçlar elde edilmiştir.

*IL-6 ve IL-12*, MS hastalarında yüksek bulunmuştur (53).

Yapılan çalışmalarda, IF- $\gamma$  (6,34), TNF- $\alpha$  (47), IL-4 (6), IL-10 (8)'un MS hastalarında BOS'da yüksek olduğu gösterilmiştir.

#### *Beyin dokusunda sitokinler*

TNF- $\alpha$ , IF- $\gamma$ , IL-10 (54), IL-12 (55) ve IL-6 (56) aktif MS lezyonlarında gösterilmiştir. Aktif demyelinizan lezyonlarda inaktif veya remyelinizasyon safhasında olanlara oranla TNF- $\alpha$  düzeyi daha yüksektir (57).



Şekil 3: Patogenezde etki gösteren hücre ve moleküller

## 2.8. MS Hastalığının Tedavisi:

MS hastalığının tedavisinde konvensiyonel immünosupresan ajanların etkisi kısıtlı olup yan etki profili geniştir. 1993 yılından bu yana interferon- $\beta$  (IFN- $\beta$ )'nın hastalığın tedavisinde kullanımı; hem klinisyenler hem de hastalar için ümit vericidir (34).

İdeal MS tedavisinin amacı, hastalığın sonraki aktivitesini engellemek ve daha önce oluşmuş hasarı tamir etmeye yöneliktir. MS'in inflamatuvar bir hastalık



olduğu düşünölmekte olup; RR tip MS'da bu inflamasyon alevlenirken; progressif tipte sürekli veya ard arda gelen inflamatuvar aktivitenin olduğu kabul edilmektedir. Özellikle son 10 yıldır , MS alanında özellikle hastalık seyrini etkileyici yeni tedavi yöntemleri araştırılmakta olup; en iyi sonuçlar rekombinant interferon beta ile elde edilmiştir (58). Şu anda IFN $\beta$ 'nın MS'deki relaps oranlarını düşürebileceğine, özörlölüğün ilerlemesini yavaşlatabileceğine ve RRMS hastalarındaki yeni MRG lezyonlarının birikimini azaltacağına dair veriler rapor edilmiştir (16,17)

### **2.8.a. IFN- $\beta$ Nasıl Etki Gösterir?**

IFN- $\beta$ 'nın yapılan araştırmalar sonucu muhtemel etkileri otoreaktif T hücrelerinin proliferasyonunu engellemek; MHC sınıf II molekküllerinin inhibisyonu; proinflamatuvar sitokinlere antagonistik etkisi; T hücrelerinin kan-beyin bariyerinden migrasyonunu sağlayan metalloproteinazların inhibisyonudur (59).

### **2.8.b. IFN- $\beta$ ve Sitokinler:**

IFN- $\beta$ 'nın etki mekanizmasını açıklamak amacı ile yapılan çalışmalar; hastalığın henüz tam olarak bilinmeyen patogenezinin de anlaşılmasında yol gösterici olmaktadır. İlacın etkisini MSS'inde inflamatuvar demyelinizan lezyonlardaki sitokinler üzerinden gösterdiği düşünölmektedir (60,61,62). TNF- $\alpha$  düzeylerindeki yükselme; hastalık tablosunun ağırlığı ve hastalığın progresi ile koreledir (47). Gayo ve arkadaşları (63), IFN- $\beta$  tedavisi ile TNF $\alpha$  düzeylerinin düştüğünü gözlerken; Rudick RA ve arkadaşları (64) ve Kastrukoff ve arkadaşları (65), IFN- $\beta$  ile immünsuppresif sitokinlerin arttığını, 2 yıl IFN- $\beta$ 1a tedavisi sonrası BOS IL-10 seviyesinde yükselme olduğunu rapor etmişlerdir. Bu bulguların aksine,

Gayo ve arkadaşları (63) IFN- $\beta$ 1b ile tedavi edilen hastalarda IL-10 ve TGF- $\beta$  seviyelerinde değişiklik gözlememişlerdir. IFN- $\beta$ 'nın sitokinler üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar devam etmektedir. Bu konuda farklı sonuçlar elde edilmekle birlikte tedavide kullanılmakta olan interferonların, myelin antijen reaktif hücrelerde Th-1 hücre yanıtını engellediği tartışılmaktadır.

In vitro çalışmalarda IFN- $\beta$ 'nın anti-proliferatif etkisi ve IL-10 sekresyonunu artırdığı halde pro-inflamatuar sitokin sekresyonunu engellemediği gözlenmiştir. Bu durum, IFN- $\beta$  tedavisi ve Th-1 sitokin supresyonu arasında daha karmaşık bir ilişkinin varlığını düşündürmektedir (11).



### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Hastalar:

Bu çalışma Poser (23) tanı kriterlerine göre MS tanısı almış 10 hasta ve 9 kontrol grubu ile yapıldı. Bu hastaların ikisinin hastalık ile uyumlu biyopsi bulguları mevcuttu. Sekizi kadın, 2'si erkek olan olguların yaş ortalamaları  $37,1 \pm 7,2$  (18-46) idi. Kontrol grubu olarak benzer yaş ve cinsiyette, immün düzenleyici tedavi kullanmayan 9 MS hastası alındı. Hasta ve kontrollerin tümü RR MS formunda olup, son iki yıl içinde en az iki klinik atak geçirmişlerdi. Vakalar remisyon safhasındalardı ve en son atakları en erken 4 hafta önceydi.

Çalışma öncesinde 4 hafta içinde viral ya da başka bir belirgin hastalığı olanlar, kronik hastalık, ilaç ya da alkol bağımlılığı öyküsü olanlar çalışmaya alınmadı. Hastalar çalışmaya başlamadan önce son bir ay içinde sistemik steroid tedavisi almışlarsa çalışmaya alınmadılar. Tüm hastalara IFN- $\beta$  tedavisine eşlik eden grip benzeri semptomları gidermek için ilk IFN- $\beta$  dozundan 2 saat önce 400mg ibuprofen verildi. Hastaların hiç biri, daha önce IFN- $\beta$  ya da diğer bir immün düzenleyici tedavi almamıştı. Tedavi alan hastaların tümü aynı ilacı kullandılar.

Tedavi alan hastalarda takipleri sırasında IFN- $\beta$ 'nin yan etkilerinin değerlendirilmesi için karaciğer fonksiyonları, böbrek fonksiyonları ve hemogram takibi yapıldı.

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesi tarafından onaylanmış ve tüm hastalardan ve kontrol grubundan yazılı onay formu alınmıştır.

Tablo 2'de hastaların demografik bilgileri gösterilmektedir.

**Tablo 2**  
Çalışmaya alınan hastaların özellikleri

	Tedavi alan hastalar	Tedavi almayan hastalar
Cinsiyet (kadın/erkek)	8/2	7/2
Yaş (yıl) <sup>a</sup>	37,1 ± 7,2	36,6 ± 9,94
Hastalık süresi (yıl) <sup>a</sup>	5,5 ± 3, 3	5,7 ± 3,6
EDSS <sup>c</sup> (bazal) <sup>b</sup>	2 (1-3,5)	2 (1-3)

<sup>a</sup>“Mean” ± SD.

<sup>b</sup>“Median” (en düşük ve en yüksek değer).

<sup>c</sup> EDSS: “expanded disability status scale”.

### 3.2. Örnekler:

Tüm hastalardan ve kontrollerden tedaviden hemen önce/bazal, tedavinin 24. saatinde, 72. saatinde, 1. haftasında, 1. ayında ve 3. ayında serum örnekleri alındı. Yine aynı hastalardan tedaviden hemen önce/bazal, 1-3. haftalarda ve 3. ayda BOS örnekleri alındı. Kontrol grubundaki iki hastanın BOS örnekleri hastalar onaylamadığı için alınmadı. Kan örnekleri 30 dk içinde sentrifüj edilerek serumları ayrıldı ve alınan serum ve BOS örnekleri soğuk zincir korunarak taşındı ve tahlil zamanına kadar  $-70^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Sitokin kaybını önlemek için örnekler bir kez donduruldu.

Biyolojik yanıtın ölçüleceği örneklere (tedavi grubu ve alınma zamanı açısından) rastgele numaralar verilerek analitik açıdan körleştirildi.

### 3.3. Sitokinlerin Çalışılması:

Alınan örneklerdeki sitokin ölçümleri insan TNF $\alpha$ , IL-10 ve IL-12 “High sensitivity” Quantikine ELISA (R&D Systems Europe, Oxon., UK) kitleri ile yapıldı. Tüm kitlerde üreticinin tarif ettiği protokol değişiklik yapılmadan uygulandı. TNF $\alpha$  ve IL-12 için BOS değerlendirmelerinde hücre kültürü baz

alınarak yapıldı. BOS ve serum örnekleri, değerlerde oluşabilecek farkı önlemek için farklı kitlerde çalışıldı.

### **3.4. İstatistik:**

Ortalama  $\pm$  SD'ler verildi.

Tedavi alan ve tedavi almayan hastaların aynı zamanlardaki sitokin düzeyleri "Mann-Whitney U" testi ile karşılaştırıldı. Grup içi karşılaştırmalar, "Tekrarlanmış ölçümler için Anova testi" ile yapılarak; her grup için kendi değerlerinin zaman içindeki değişimine bakıldı.

$P < 0.05$  anlamlı değer olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Tedavi alan ve tedavi almayan hastaların Kurtzke genişletilmiş disabilite değerleri (EDSS) 1-3,5 arasında değişmekteydi (her iki grup için *median* değeri 2 olarak hesaplandı). 3 aylık takipleri sırasında hiçbir hastada akut MS atağı izlenmedi. Tedavi almayan hastaların iki tanesinde BOS incelemesi yapılamadı.

### 4.1. TNF $\alpha$ Düzeyleri:

TNF- $\alpha$  alınan tüm örneklerde ölçülebilir değerlerdeydi. Tedavi alan ve almayan grupların bazal TNF- $\alpha$  değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Tedavi almayan grup tedavi alan grupla karşılaştırıldığında 3. ayda BOS'da TNF  $\alpha$  değerlerinde istatistiksel anlamlı yükseklik izlendi ( $p=0,05$ ). Serumdaki değerlerinde anlamlı değişiklik gözlenmedi.

**Tablo 3**Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri

	Tedavi alan hastalar	Tedavi almayan hastalar
Bazal	2,12 $\pm$ 1,46	2,02 $\pm$ 0,80
24. saat	2,04 $\pm$ 0,69	2,50 $\pm$ 1,48
72. saat	2,43 $\pm$ 1,86	2,38 $\pm$ 0,97
1. hafta	2,56 $\pm$ 1,46	2,76 $\pm$ 1,30
1. ay	2,86 $\pm$ 1,46	2,34 $\pm$ 1,21
3. ay	2,46 $\pm$ 1,60	2,30 $\pm$ 0,88

Değerler ortalama pg /ml  $\pm$  SD olarak verilmiştir.**Tablo 4**BOS TNF- $\alpha$  düzeyleri

	Tedavi alan hastalar	Tedavi almayan hastalar
Bazal	0,24 $\pm$ 0,21	0,16 $\pm$ 0,07
3. hafta	0,21 $\pm$ 0,08	0,26 $\pm$ 0,19
3. ay	0,14 $\pm$ 0,11*	0,31 $\pm$ 0,16

Değerler ortalama pg /ml  $\pm$  SD olarak verilmiştir. \* p<0.05

#### 4.2. IL-10 Düzeyleri:

IL-10, tüm örneklerde ölçülebilir değerlerdeydi. Tedavi alan ve almayan hastaların bazal IL-10 düzeyleri arasında serum ve BOS'da istatistiksel anlamlılık yoktu. Tedavi almayan hastalarda serumda IL-10 düzeylerinin zaman içindeki değişimine bakıldığında istatistiksel anlamlılık bulunamadı. Ancak 3. Ayda tedavi alan grupta serum ve BOS IL-10 düzeylerinin tedavi almayan gruba göre anlamlı arttığı izlendi.

**Tablo 5**

Serum IL-10 düzeyleri

	Tedavi alan hastalar	Tedavi almayan hastalar
Bazal	16,29 ± 5,74	10,26 ± 7,25
24. saat	18,78 ± 11,81	10,09 ± 8,02
72. saat	15,68 ± 10,13	9,04 ± 3,55
1. hafta	16,89 ± 12,96	8,59 ± 3,22
1. ay	7,41 ± 2,98	11,46 ± 11,61
3. ay	10,48 ± 3,00*	9,79 ± 7,69

Değerler ortalama pg /ml ± SD olarak verilmiştir. \* p<0.05

**Tablo 6**

BOS IL-10 düzeyleri

	Tedavi alan hastalar	Tedavi almayan hastalar
Bazal	17,68 ± 14,56	24,68 ± 9,29
3. hafta	27,90 ± 16,18	26,28 ± 14,78
3. ay	22,68 ± 12,12*	8,06 ± 3,33

Değerler ortalama pg /ml ± SD olarak verilmiştir. \* p<0.05



### 4.3. IL-12 Düzeyleri:

Tedavi alan grupta %13, almayan grupta %18 örnekte IL-12 ölçülebilir düzeydeydi. Diğer örneklerin tümü ölçülebilir değerlerin altındaydı. Bu değerler mümkün olan en düşük değer kabul edilerek yapılan karşılaştırmalarda tedavi alan ve almayan grup arasında ve tedavi alan grupta zaman içinde istatistiksel fark olmadığı görüldü.

**Tablo 7**  
Serum IL-12 düzeyleri

	Tedavi alan hastalar	Tedavi almayan hastalar
Bazal	0,05 ± 0,12	0,01 ± 0,03
24. saat	0,03 ± 0,06	0,08 ± 0,19
72. saat	0,01 ± 0,00	0,10 ± 0,26
1. hafta	0,18 ± 0,52	0,08 ± 0,19
1. ay	0,05 ± 0,09	0,02 ± 0,03
3. ay	0,06 ± 0,14	0,02 ± 0,02

Değerler ortalama pg /ml ± S.D. olarak verilmiştir.

**Tablo 8**  
BOS IL-12 düzeyleri

	Tedavi alan hastalar	Tedavi almayan hastalar
Bazal	0,04 ± 0,08	0,03 ± 0,04
3. hafta	0,08 ± 0,14	0,25 ± 0,48
3. ay	0,06 ± 0,10	0,04 ± 0,07

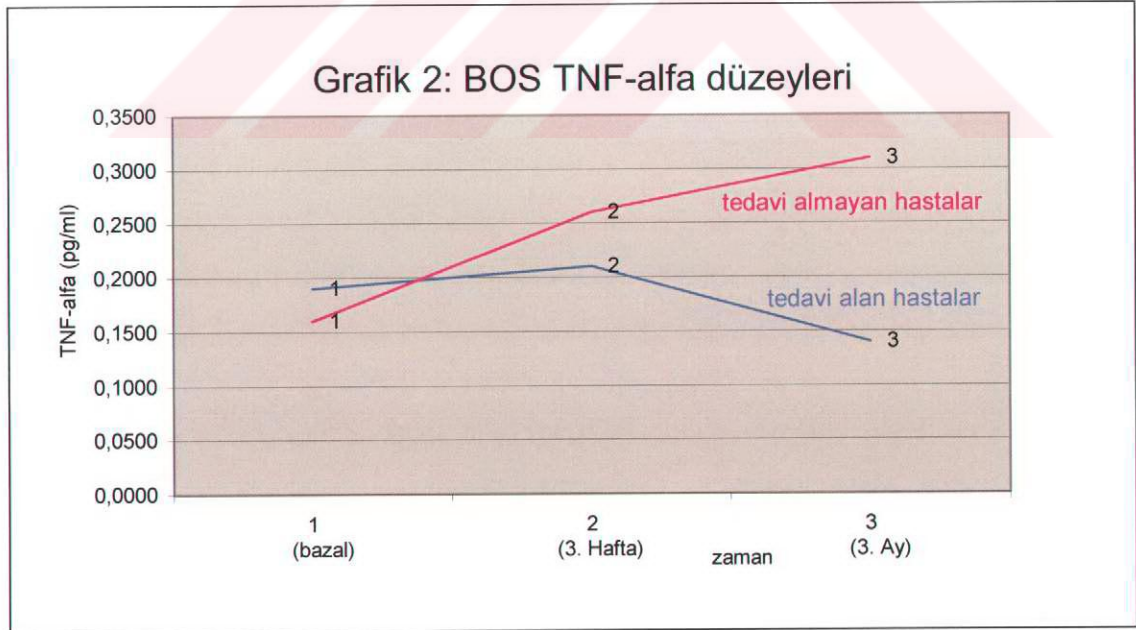
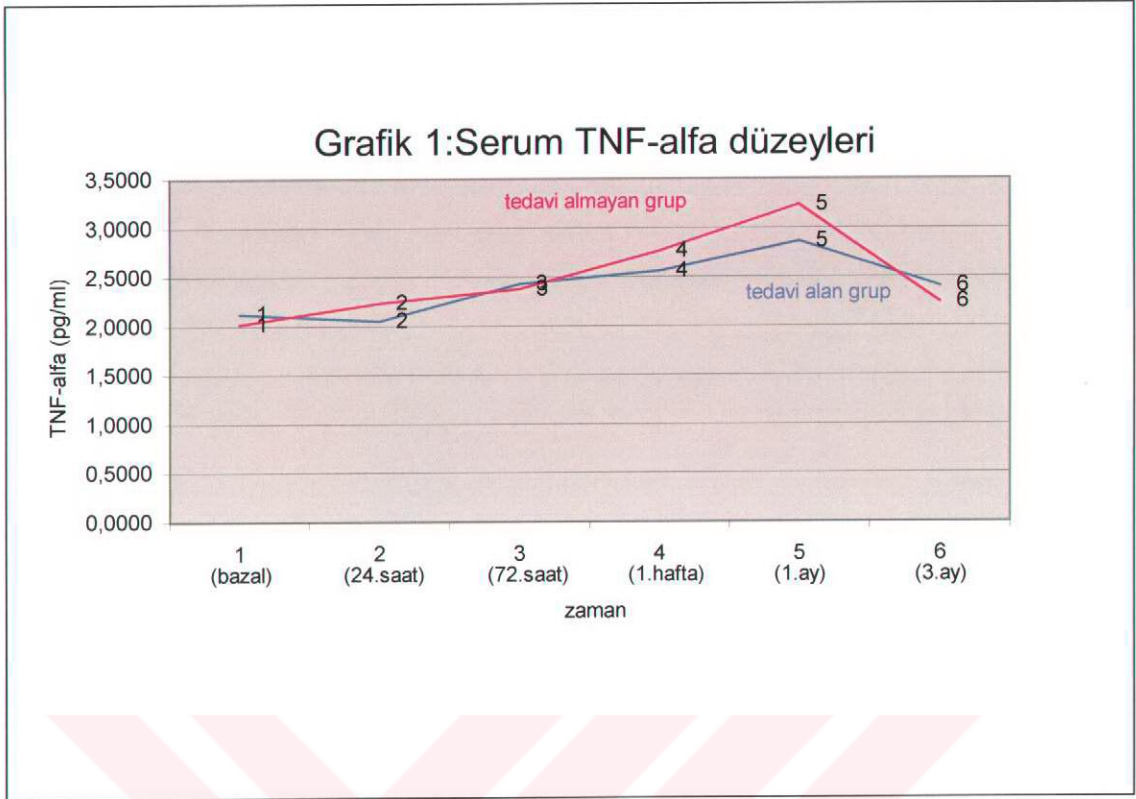
Değerler ortalama pg /ml ± SD olarak verilmiştir.

## 5. TARTIŞMA

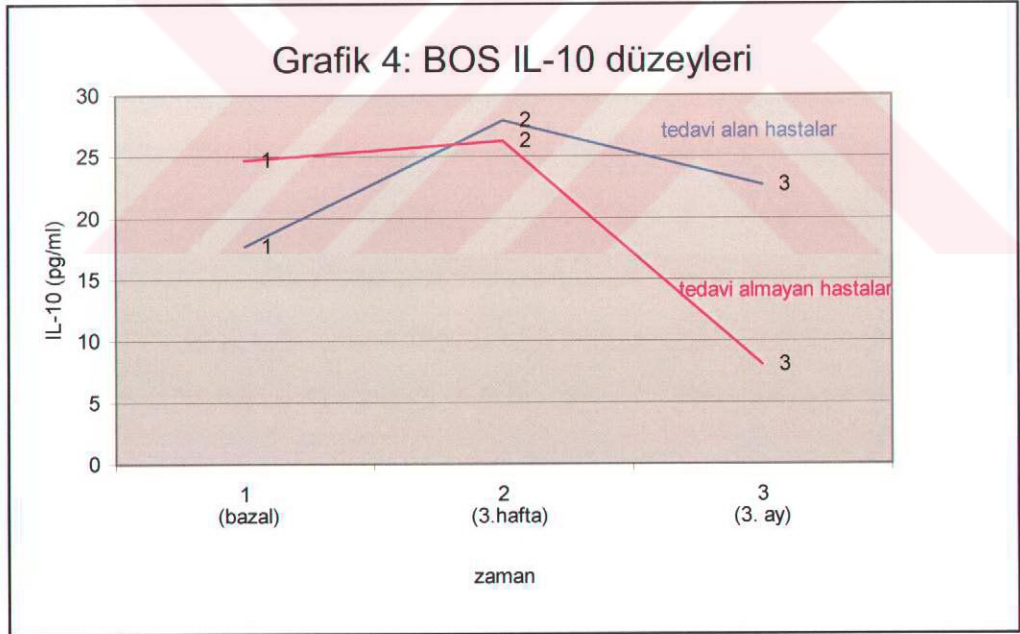
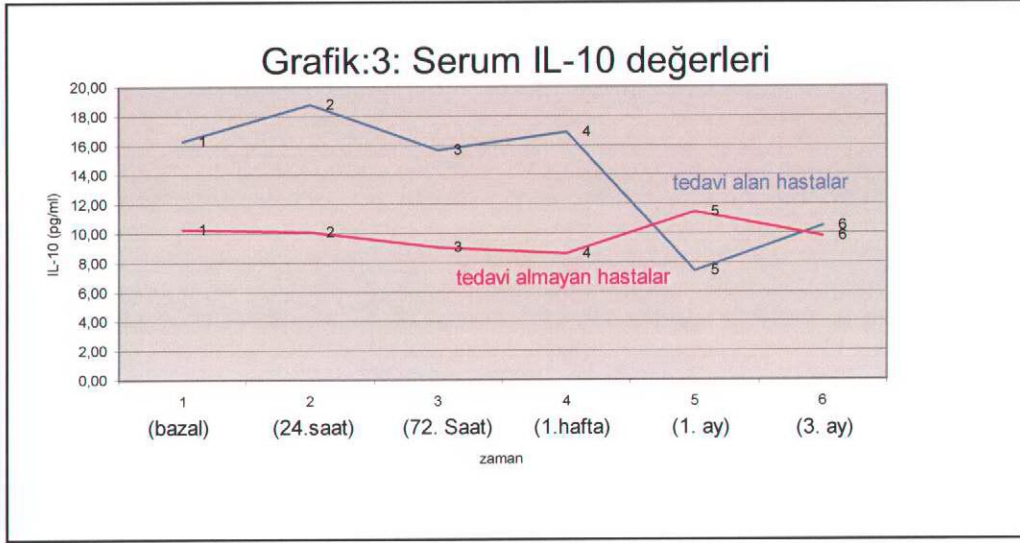
IFN- $\beta$ 'nın MS hastalığının tedavisindeki olumlu sonuçları bir çok çalışmada gösterilmiş olmasına rağmen halen bu ajanın hangi yolla hastalığın klinik seyrini etkilediği bilinmemektedir (66). IFN- $\beta$ 'nın etki mekanizmasını açıklamak amacı ile yapılan çalışmalar; hastalığın henüz tam olarak bilinmeyen patogenezinin de anlaşılmasında yol göstericidir. Farmakolojik ajanların hastalığın patomekanizması ile olan ilişkisinin açıklanması, gelecek terapötik stratejilerdeki etkinliği artırmak için önemlidir (67)

Bu çalışmada IFN $\beta$ -1b tedavisi alan 10 RRMS hastasının 3 ay süreli izlemleri sırasında antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10 serum ve BOS düzeylerinin 3. ayda tedavi almayan kontrol grubuna göre anlamlı yükseldiği gösterildi. Proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- $\alpha$  ise tedavi almayan grupta, tedavi alan gruba göre değerleri BOS incelemelerinde yüksek bulundu. Başka bir proinflamatuvar sitokin, IL-12 ölçümü zor ve daha çok hücre kültürlerinde düşük miktarlarda ölçülebilir özelliğiyle tanınmaktadır. Bizim çalışmamızda tedavi alan MS hastalarının %13'ü, tedavi almayan kontrol grubunun %18'inde ölçülebilen değerler kaydedildi. Az sayıda olan bu ölçümler arasında tedavi alan ve almayan grup arasında fark izlenmedi.

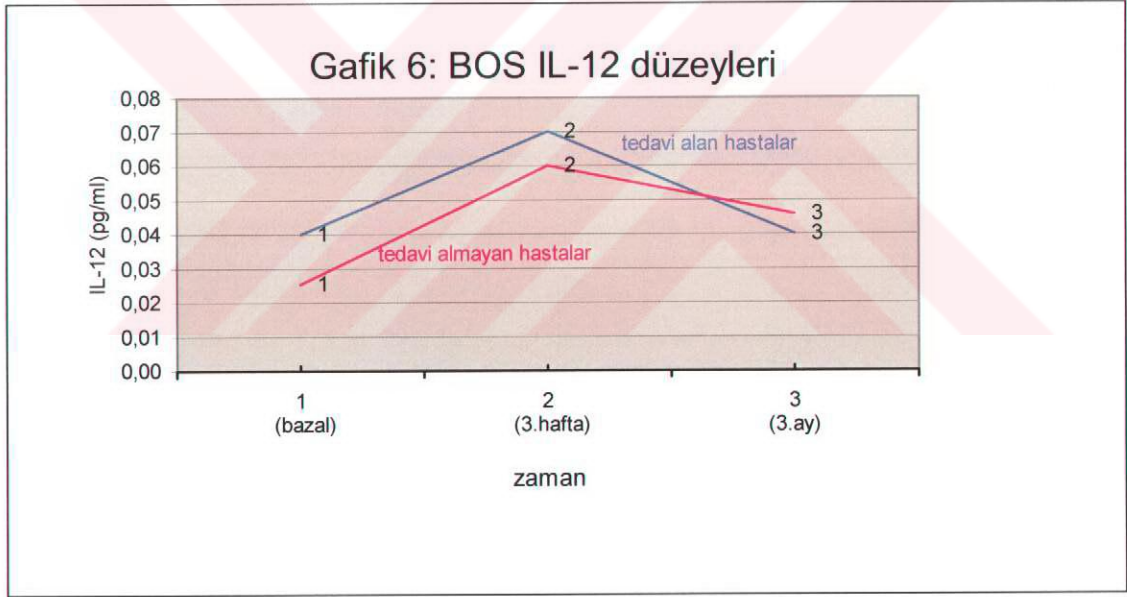
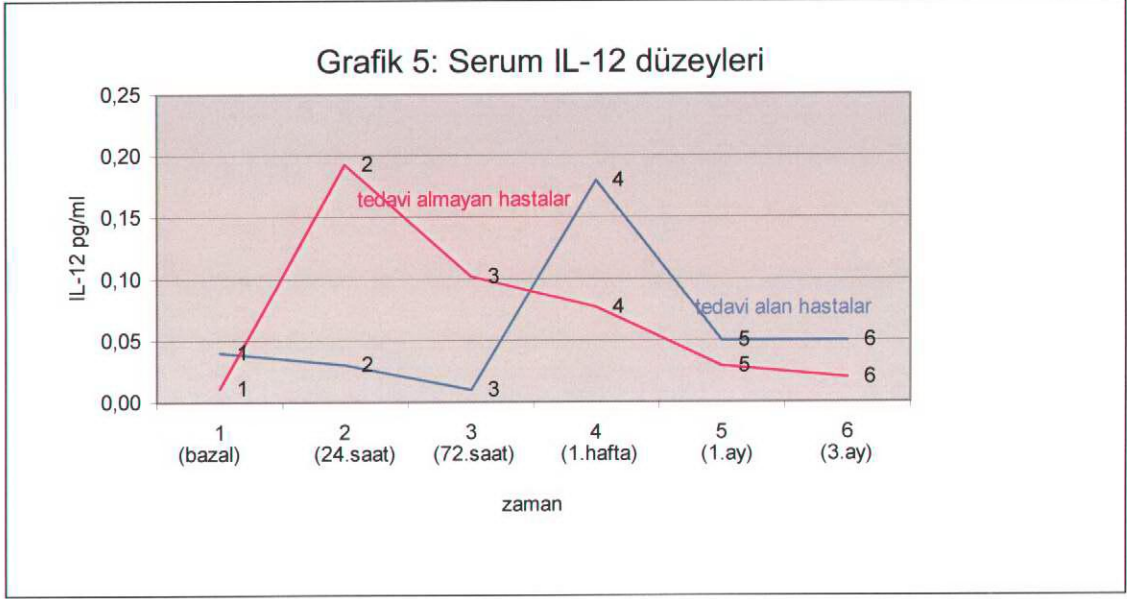
Yapılan bir çok çalışma sonucunda IFN- $\beta$ 'nın immünmodulatuvar etkisi olduğu ve sitokinleri etkilediği sonucu elde edilmektedir, ancak bu etkinin nasıl olduğu hala tartışmalıdır (68-74). Son dönemlerde bu konuda yapılan çalışmalarda elde edilen veriler değişkenlik göstermekle beraber; IFN- $\beta$  tedavisi ile Th-2 tip sitokinlerin etkin hale geldiği düşünülmektedir (75-77).



**Grafik 1 –2 :** Tedavi alan ve almayan hastaların takiplerindeki serum ve BOS TNF- $\alpha$  değerleri gösterilmektedir.



**Grafik 3-4:** Tedavi alan ve almayan hastaların takiplerindeki serum ve BOS IL-10 değerlerini göstermektedir.



**Grafik 5-6:** Tedavi alan ve almayan hastaların takiplerindeki serum ve BOS IL-12 değerlerini göstermektedir.

Bizim çalışmamızda, tedavi almayan RRMS hastalarında BOS TNF- $\alpha$  düzeyleri tedavi alan gruba göre değerlerin yüksek olduğu ve anlamlı istatistiksel farkın 3. ayda ortaya çıktığı görüldü. BOS TNF- $\alpha$  değerlerinde gözlediğimiz değişiklikler, hastalar 3 aydan daha uzun süre takip edildiğinde belirgin ve stabil hale gelebilir. Yapılan çok sayıda çalışmada MS hastalarında, serum ve BOS TNF- $\alpha$  düzeyleri ile hastalık aktivitesi ve progresyonu arasında ilişki tesbit edilmiştir. (8,11). Kiyoto Hohnoki ve arkadaşları (45). TNF- $\alpha$  düzeylerini MS hastalarında belirgin şekilde yüksek bulmuşlardır. MS hastalığının hayvan modeli olan EAE'de, CD4+ T hücreleri myelin antijenleri ile aktif hale getirildiğinde BOS'da Th1 tip sitokinlerden olan TNF- $\alpha$  ve IF- $\gamma$  salgılamaktadırlar (49). Bizim çalışmamıza olduğu gibi IFN- $\beta$ 'nin MS hastalarında artan TNF- $\alpha$ 'nın yükselmesini baskıladığı başka çalışmalarda da gösterilmiştir (78,79). A. Gayo ve arkadaşları (63) IFN- $\beta$ 1b ile MS hastalarında yüksek olan TNF- $\alpha$  değerlerinin tedavinin 3. ve 6. ayında normal değerlerine ulaştığını rapor etmişlerdir.

IL-10 stabil MS hastalarında periferik mononükleer hücreler tarafından üretilmektedir (80,11). MS hastalarında ve hayvan modellerinde yapılan çalışmaların ışığında, IL-10'un remisyonu sağlamada önemli görevi olduğu düşünülmektedir (79). Martin H.G. ve arkadaşları (81) IFN- $\beta$  tedavisinin IL-10 ekspresyonunu artırıcı yönde etkisini tesbit etmişlerdir. Bu çalışmada ve yapılan diğer çalışmalarda (64,79,81,82) olduğu gibi IFN- $\beta$  tedavisi ile immunsuppressif etkisi olan IL-10 artmaktadır. Bizim çalışmamızda tedavi alan grupta serum ve BOS IL-10 düzeylerinde anlamlı fark 3. ay örneklerinde bulundu ( $p=0,008$ ). IL-10 hangi hastaların tedaviden fayda gördüğünün değerlendirilmesinde önemli bir parametre olabilir (81).



Bizim çalışmamızda IFN- $\beta$  tedavisinin IL-12 üzerindeki etkisi çok sayıda örnekte elde edilen değerlerin ölçüm aralığının altında olması nedeniyle yorumlanamamıştır. Ölçülebilen değerler ise vakaların kendi değerleri içinde ve iki grup karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda fark oluşturmuyordu. Bu konuda kesin bir değerlendirme yapmak IL-12'nin ölçümünün zor olması ve hücre kültürlerinde düşük düzeylerde bulunması nedeni ile güçtür.

Sonuç olarak; IFN- $\beta$  tedavisinin etki mekanizmasının bilinmesi; hastalığın patolojisinin açıklanması ve gelecek tedavi protokolünün belirlenmesi açısından önem taşımaktadır. Bizim yaptığımız çalışmada, tedavi ile anti-inflamatuvar sitokinlerden IL-10 artarken; pro-inflamatuvar bir sitokin olan TNF- $\alpha$  baskılanmaktadır. Ancak bu etki erken dönemde ortaya çıkmayıp; 3. ayda anlamlı değişikliğe ulaşmaktadır. Hastaların daha uzun süreli takiplerinde bu değişikliğin seyrini izlemek mümkün olabilir. Bu çalışmada serum sitokinlerinin yanı sıra, BOS sitokin düzeyleri de bakıldı ve BOS sitokinlerinin de benzer şekilde tedavi ile değiştiği görüldü. Serum örnekleriyle beraber BOS örneklerinin çalışıldığı ve tedavi sonrası erken dönem ile başlayan 3 aylık takibin yapıldığı çalışmamızda tedavi alan grupta TNF- $\alpha$  nın önce BOS da baskılandığı görüldü. Daha uzun takipli çalışmalar bu proinflamatuvar sitokininin serum düzeyleri hakkında bilgi verecektir. IL 10'un serum ve BOS değerleri tedavi alan grupta aynı zamanda artış gösterdi. BOS sitokinlerinin MS hastalarında ve tedaviyle değişimi serumdaki kadar net olmaması nedeniyle çalışmamız hem serum, hem BOS değerlerini içerdiği ve değişiklik gözlemlendiği için önem taşımaktadır.

## 6. ÖZET

MS hastalığının etyolojisinde immünolojik mekanizmanın etkin olduğu düşünülmektedir. IFN- $\beta$  tedavisinin MS hastalarında sitokin düzeyleri üzerinde etkisi olduğu tartışılmaktadır. Bu çalışmada MS hastalarında etkin olan TNF- $\alpha$ , IL-10 ve IL-12 düzeylerinin IFN- $\beta$  tedavisi ile değişimi izlendi.

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Bölümü Multiple Skleroz polikliniğinde takip edilen 19 RR tip MS vakası ile yapıldı. Hastaların 10'unda interferon tedavisi başlanmadan hemen önce, 24. saatte, 72. saatte, 1. haftada, 1. ayda ve 3. ayda serum; tedaviden hemen önce, 3. haftada ve 3. ayda BOS örnekleri alındı. Diğer 9 hasta tedavi almıyordu bu hastalardan da tedavi alan hastalarda olduğu gibi aynı periyotlarda serum ve BOS örneleri alındı. Alınan bu örnekler uygun şartlarda saklandı ve ELISA yöntemi ile TNF- $\alpha$ , IL-10 ve IL-12 düzeylerine bakıldı.

Sonuç olarak, IFN- $\beta$  tedavisi alan hastalar, tedavi almayan hastalar ile karşılaştırıldığında anti-inflamatuar bir sitokin olan IL-10'un arttığı; pro-inflamatuar sitokinlerden TNF- $\alpha$ 'nın baskılandığı gözlemlendi. Pro-inflamatuar bir sitokin olan IL-12 seviyelerinin ise büyük çoğunluğu ölçülebilir değerlerin altında bulundu ve elde edilen veriler karşılaştırıldığında gruplar arasında fark izlenmedi. TNF- $\alpha$  ve IL-10 düzeylerindeki etkiler erken dönemlerde olmayıp, 3. ayda anlamlılık kazandı. Daha uzun süreli takiplerle mevcut olan değişikliklerin stabilize olup olmadığı değerlendirilebilir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Mc Farlin DE, Mc Farland HF, Multiple sclerosis (First of two parts). N Engl J Med 1982;20:1240-1249.
2. Mc Farlin DE, Mc Farland HF, Multiple sclerosis (second part of two parts). N.Engl J Med 1982;20:385-396.
3. Alev L, Multipl sklerozun klinik ve demografik özellikleri. Uzmanlık tezi, İstanbul,1996.
4. Frei K, Fredrikson S, Fontana A, et al. Interleukine 6 is elevated in plasma in multiple sclerosis. J Neuroimmunol 1991;31:147-153.
5. Sharief MK and Thompson EJ. In vivo relationship of tumor necrosis factor- $\alpha$  to blood-brain barrier damage in patients with active multiple sclerosis. Journal of Neuroimmunology 1992;38:27-34.
6. Link J, Soderstrom M, Olsson T, Hojeberg B, Ljungdahl A, Link H. Increased transforming growth factor- $\beta$  interleukin-4 and interferon- $\gamma$  in multiple sclerosis. Ann Neurol 1994; 36:379-386.
7. Rieckman P, Albrecht M, Kitzke B, et al. Tumor necrosis factor alfa mRNA expression in patients with relapsing remitting multiple sclerosis is associated with disease activity. Ann Neurol 1995;37:82-88.
8. Navikas V, Link H, Review: cytokines and the pathogenesis of multiple sclerosis. J Neurosci Res 1995;45:322-333.

9. Brück Wolfgang B. MD, Porada P, Poser S, et al. Monocyte/macrophage differentiation in early multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 1995;38:788-796.
10. Mosmann TR, Coffman RL. Th1 and TH2 cells: Different patterns of lymphokine secretion leads to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989;7:145-173.
11. Sharief MK, Hentges R. Association between tumor necrosis factor – alfa and disease progression in patients with multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1991;325:467-472.
12. Rieckman P, Albrecht M, Kitze B, et al. Cytokine mRNA levels in mononükleer blood cells from patients with multiple sclerosis. *Neurology* 1994;44:1523-1526.
13. Matusевичius D, Navikas V, Söderström M, et al. Multiple sclerosis: The proinflammatory cytokines lymphotoxin alpha and tumour necrosis factor alpha are upregulated in cerebrospinal fluid mononuclear cells. *J. Neuroimmunol.* 1996;66:115-123.
14. Schluep M, Melle G, Henry H. Assessing multiple sclerosis activity: is the in vitro production of tumor necrosis factor-alfa, interleukins 2,6,4 and 10, and immunoglobulin G of value? *J of Neurology* 1999;246:1041-1050.
15. Correale J, Gilmore W, Mcmillan M, et al. Patterns of cytokine secretion by autoreactive proteolipid protein specific T cell clones during the course of multiple sclerosis. *J Immunol* 1995;154:2959-2968.
16. The IFN-beta Multiple Sclerosis Study Group and the University of British Columbia MS/MR Analysis Group. Interferon beta-1b in the treatment of

multiple sclerosis: final outcome of the randomized controlled trial. *Neurology* 1995, 45:1277-1285.

17. MS/MRI Study Group and the IFN-beta Multiple Sclerosis Study Group, Paty D.W. and Li D.K. Interferon beta-1b is effective in relapsing remitting multiple sclerosis: II MRI analysis of results of a multicenter, randomized, double blind, placebo controlled trial. *Neurology* 1993, 43:662-667.
18. Bartholome EJ, Williems F, Crusiaux A, et al. Interferon-beta inhibits Th1 responses at the dendritic cell level. Relevance to multiple sclerosis. *Acta Neurol Belg* 1999;99:144-52.
19. Hans Link, Yu-Min Huang, Bao-Guo Xiao. Dendritic cells in experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology* 1999;100:102-110.
20. Victor M, Ropper AH. *Principles of Neurology*. p. 954-982 7th Edition McGraw-Hill, New York, 2001.
21. Lucchinetti C. MD. Update on pathology and immunopathogenesis of multiple sclerosis. *ANN*, 2001.
22. Coles A. Multiple sclerosis. Ed: Neil Scolding, *Contemporary Treatments in Neurology*. p. 130-146, Butterworth Heineman, UK, 2001.
23. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L et al. New diagnostic criteria for MS: Guidelines for research protocols. *Ann Neurology* 1983;3:227-231.

- 24.. Hickey WF. The pathology of multiple sclerosis: a historical perspective. *Journal of Neuroimmunology*, 1999; 37-44.
25. Kurtzke JF, Beebe GW, Norman JE JR. Epidemiology of multiple sclerosis in U.S. veterans: Age, sex, and geograohic distribution. *Neurology* 1979;29:1228-1236.
26. Dean G, Bhigjee AIG, Bill PLA ,et al. Multiple sclerosis in black South Africans and Zimbabwens. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 1994;57:1064-1069.
27. Ebers GC, Bulman DE, Sadovnick AD. A population based study of multiple sclerosis in twins. *N Engl J Med* 1986;315:1638-1642.
28. Altıntaş A, Kantarcı O., Saip S. Multipl sklerozda sitokin düzeyleri. *Türk Nöroloji Dergisi* 2000;4:1-9.
29. Hall GL, Compston A and Scolding NJ. Beta-interferon and multiple sclerosis. *Trends Neuroscion* 1997;20:63-67.
30. Trapp BD, Bö L, Sverre MS, Chang A. Pathogenesis of tissue injury in MS lesions. *Journal of Neuroimmunology* 1999;98:49-56.
31. Van der Valk P, De Groot CJ. Staging of multiple sclerosis (MS) lesions: pathology of the time frame of MS. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2000; 26:2-10.
32. Özenci V. İmmune regulation in multiple sclerosis: Cytokines and metalloproteinesis. *Uzmanlık tezi. Stockholm,2000.*

33. Sriram S, Rodriguez M. Indictment of the microglia as the villain in multiple sclerosis (review). *Neurology* 1997;48:464-470.
34. Scolding NJ. Oligodendrocyte injury and the role of complement in multiple sclerosis. In *advances in multiple sclerosis*. P. 25-33, Ed. Fredrikson Sand Link H. Martin Dunitz Ltd, London 1999, U.K.
35. Bar-Or A, Oliveria EML, Anderson DE, et al. Molecular pathogenesis of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology* 1999;100:252-259.
36. Linington C, Bradl M, Lassmann H, et al. Augmentation of demyelination in rat EAE by circulating mouse monoclonal antibodies directed against a myelin oligodendrocyte glycoprotein. *American Journal of Pathology* 1988;130:443-454.
37. Reinhard Hohlfeld. Immunotherapy of multiple sclerosis what are the implications of disease heterogeneity. P.145-154. Ed. Thompson J., Polman C., Hohlfeld R. Martin Dunitz. Ltd. 1997, London.
38. Richerd M. Ransohoff. Mechanism of inflammation in MS tissue: adhesion molecules and chemokines. *Journal of Neuroimmunology* 1999;98:57-68.
39. Weinstock-Guttman B, Jacobs LD. What is new in the treatment of multiple sclerosis? *Drugs* 2000;59:401-410.
40. Mosmann TR, CoffmanRL. Th1 and TH2 cells: Different patterns of lymphokine secretion leads to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989;7:145-173.

41. Seder RA, Boulay JL, Finkelman F, Barbier , Ben Sasson SZ, Le Gross GG, Paul WE. CD8+T cells can be primed in vitro to produce IL-4. *J Immunol* 1992;148:1652.
42. Romagnoni S. Th1 and Th2 in human disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1996;80:225-235.
43. Van Boxel-Dezaire AH, Hoff SC, Van Oosten BW, Verweij CL, Drager AM, Ader HJ et al. Decreased interleukin 10 and increased interleukin 12p40 mRNA are associated with disease activity and characterize different disease stages in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1999;45:695-703.
44. Panitch HS, Hirsch RL, Haley AS, Johnson KP. Exacerbations of multiple sclerosis in patients treated with gamma interferon. *Lancet* 1987;1:893-5.
45. Hohnoki K, Inoue A, Koh CS. Elevated serum levels of IFN-gamma, IL-4 and TNF-alfa/unelevated serum levels of IL-10 in patients with demyelinating disease during the acute stage. *J Neuroimmunology* 1998;87:27-32.
46. Huang YM, Xiao BG, Özenci V, Kouwenhoven M, Teleshova N, Fredrikson S, Link H, 1999. Multiple sclerosis is associated with high levels of circulating dendritic cells secreting pro-inflammatory cytokines. *J Neuroimmunol* 1999;87: 82–90.
47. Navikas V, Matusevicius D, Soderstrom M, Fredrikson S, Kivisakk P, Ljungdahl A, Hojeberg B, Link H. Increased interleukin-6 mRNA expression in blood and cerebrospinal fluid mononuclear cells in multiple sclerosis *J Neuroimmunol* 1996;64, 63–69.

48. Franciotta DM, Grimaldi LM, Martino GV, Piccolo G, Bergamaschi R, Citterio A, et al. Tumor necrosis factor in serum and cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1989;26:787-789.
49. Vilaroyya H, Marie Y, Ouallet JC, et al. Expression of TNF- $\alpha$  in central neurons of Lewis rat spinal cord after EAE induction. *J Neurosci Res* 1997;49:592-599.
50. Tilg H, Dinarello CA, Mier JW. IL-6 and APPs anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunol Today* 1997;18:428-432.
51. Schindler R, Mancilla J, Endres S, Ghorbani R, Clark SC, Dinarello CA. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells:IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood* 1990;75:40-47.
52. Padberg F, Feneberg W, Schmidt S, Schwarz MJ, Korschenhausen D, Greenberg BD, et al. CSF and serum levels of soluble interleukin-6 receptors (sIL-6R and sgp 130), but not of interleukin-6 are altered in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 1999;99:218-223.
53. Fassbender K, Ragoschke A, Rossol S, Schwartz A, Mielke O, Paulig A, et al. Increased release of IL-12 p40 in MS association with intracerebral inflammation. *Neurology* 1998;51:753-758.
54. Cannella B, Raine CS. The adhesion molecule and cytokine profile of multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 1995;37:424-35.

55. Windhagen A, Newcombe J, Dangond F, et al. Expression of costimulatory molecules B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), and interleukin 12 cytokine in multiple sclerosis lesions. *J Exp Med* 1995;182:1985-1996.
56. Maimone D, Gregory S, Arnason BG, Reder AT cytokine levels in the cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunology* 1991;32:67-74.
57. Bitsch A, Kuhlmann T, Da Costa C, Bunkowski S, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  mRNA expression in early multiple sclerosis lesions correlation with demyelinating activity and oligodendrocyte pathology. *Glia* 2000;29:366-75.
58. Compston A, Ebers G, Lassman H, Ian McDonald, Brayn Matthews, Hartmut Wekerle. The story of multiple sclerosis. S. 3-42 3. Edition, Churchill Livingstone, U.K.,1998.
59. Ristori G, Montesperelli C, Gasperini C, et al. T cell response to myelin basic protein before and after treatment with interferon beta in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology* 1999;99:91-96.
60. Kozovska ME, Hong J, Zang YCQ, et al. Interferon beta induces T-helper 2 immune deviation in MS. *Neurology* 1999;53:1962-1967.
61. Wang X, Chen M, Wandinger KP, Williams G, Dhib-Jalbut S, IFN-beta 1b inhibits IL-12 production in peripheral blood mononuclear cells in an IL-10 dependent mechanism relevance to IFN-beta -1b therapeutic effect in multiple sclerosis. *J Immunol* 2000;165:548-57.



62. Rep M.H.G, Hintzen, RQ, Polman CH, and Vanlier. Recombinant interferon-beta blocks proliferation but enhances interleukin-10 secretion by activated human T-cells. *J Neuroimmunol* 1996;67:111–118.
63. Gayo A, Mozo L, Suarez A, et al. Interferon beta-1b treatment modulates TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  spontaneous gene expression in MS. *Neurology* 1999;52:1764-1770.
64. Rudick RA, Ransohoff RM, Lee J-C, et al. In vivo effects of interferon beta-1a on immunosuppressive cytokines in multiple sclerosis. *Neurology* 1998;50:1294–1300.
65. Kastrukoff LF, Morgan NG, Zecchini D, et al. Natural killer cells in relapsing-remitting MS effect of treatment with interferon beta-1b. *Neurology* 1999;52:351–359.
66. Moses HJ MD and Sriram S MD. Interferon beta and Cytokine trail. *Neurology* 1999;52:1729.
67. Volk HD, Asadullah K, Gallagher G, et al., IL-10 and its holmologs:important immune mediators and emerging immunotherapeutic agents. *Trends in immunology* 2001;22:414-417.
68. Charles P, Weber KS, Cipriani B, et al. Cytokine chemokine and chemokine receptor mRNA exoression in different strains of normal mice:implications for establishment of a Th1/Th2 bias. *J of Neuroimmnol* 1999;100:64-73.
69. Becher B, Giacomini P, Pelletier D, et al. Inteferon-gamma secretion by peripheral blood T cell subsets in multiple sclerosis: Correlation with disease phase and interferon-beta therapy. *Ann Neurol* 1999;45:247-250.

70. Dhib-Jalbut S, Jiang H, Williams G. The effects of interferon beta-1b on lymphocyte-endothelial cell adhesion. *Journal of Neuroimmunology* 1996;71:215-222.
71. Gayo A, Mozo L, Suarez A, et al. Long term effects of interferon-beta 1b treatment on the spontaneous and induced expression of IL-10 and TGF-beta -1 in MS patients. *Journal of Neurological sciences* 2000;179:43-49.
72. Waubant E, Gee L, Bacchetti P, et al. Relationship between serum levels of IL-10, activity and interferon beta-1a therapy in patients with relapsing remitting MS. *Journal of Neuroimmunol* 1996;65:163-169.
73. Leppert D, MD, Waubant E, Bürk MR, et al. Interferon beta1-b inhibits gelatinase secretion and in vitro migration of human T cells. A possible mechanism for treatment efficacy in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1996;40:846-852.
74. Chabot S, Yong VW. Interferon beta 1b increases IL-10 in a model of Tcell-microglia interaction relevance to MS. *Neurology* 2000;55:1497-1505.
75. Reder A, Antel J. Injecting rationale into interfeon-beta therapy. *Neurology* 2000;54:2034-2035.
76. Shakir S, Byskosh PV and Reder AT. Interferon- $\beta$  induces interleukin-10 mRNA in mononuclear cells (MNC). *Neurology* 1994;44,211-212.
77. Tuohy K, Yu m, Yin L, et al. Modulation of the IL-10/IL-12 cytokine circuit by interferon-beta inhibits the development of epitope spreading and disease

progression in murine autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmunology* 2000;111:55-63.

78. Brod A MD, Lindsey JW MD, Vriesendorp FS MD, et al. Ingested IFN- $\alpha$ . Results of a pilot study in relapsing-remitting MS. *Neurology* 2001;57: 845-852.

79. Porrini AM, Gambi D, Reder At, Interferon effects on IL-10 secretion mononuclear cell response to interleukin-10 is normal in multiple sclerosis patients. *Journal of Neuroimmunology* 1995;61:27-34.

80. Raine CS. Multiple sclerosis immune system molecule expression in the central nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 1994;53:328-337.

81. Rep Martin HG, Schrijver HM, Thea van Lopi, et al. Interferon (IFN)- $\beta$  treatment enhances CD95 and interleukin 10 expression but reduces interferon- $\gamma$  producing t cells in MS patients. *Journal of Neuroimmunology* 1999;96:92-100.

82. Rudick RA MD, Ransohoff RM MD, Lee JC, et al. In vivo effects of interferon-beta 1a on immunosuppressive cytokines in multiple sclerosis. *Neurology* 1998;50:1294-1300.