



**T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA, NÖROLOJİK
MARKERLER OLAN A PROLIFERATION-INDUCING
LIGAND (APRIL), VISININ-LIKE PROTEIN-1, sRECEPTOR
FOR ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS (sRAGE),
HUMAN NEUDESIN VE AMINOACYLASE-1
SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ayhan ÇELİK

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Nigar YILMAZ

**Bu Tez, MSKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 16/053
proje numarası ile desteklenmiştir**

TEMMUZ-2017 MUĞLA

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA, NÖROLOJİK
MARKERLER OLAN A PROLIFERATION-INDUCING
LIGAND (APRIL), VISININ-LIKE PROTEIN-1, sRECEPTOR
FOR ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS (sRAGE),
HUMAN NEUDESIN VE AMINOACYLASE-1
SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ayhan ÇELİK

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Nigar YILMAZ

**Bu Tez, MSKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 16/053
proje numarası ile desteklenmiştir**

TEMMUZ-2017 MUĞLA

ÖZET

Multipl skleroz (MS), Santral sinir sistemi (SSS)'nin aktif ve inaktif dönemlerle seyreden, immün aracılı, kronik, inflamatuvar ve demiyelinizan bir hastalıdır. Kadınlar, erkeklerden yaklaşık olarak iki kat daha fazla etkilenmektedir. Etiyolojisi hala kesin olarak bilinmemekle beraber, genetik ve çevresel faktörlerin tetiklediği otoimmün mekanizmaların hastalık patogeneğinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Tipik olarak T hücre aracılı bir hastalık olarak görülse de, B hücrelerinin de patojenik bir rolü olduğunu destekleyen bulgular vardır. Hem oligodendrosit hücrelerine hem de miyelin kılıfa karşı antikor gelişimi söz konusudur. İnflamasyon, aksonların kısmen korunduğu demiyelinizasyon, oligodendrosit kaybı ve gliozis ile giden bir süreç vardır. MS fizyopatolojisinde beyaz cevher ön planda olmak üzere, gri cevher ve korteksi de etkileyebilen fokal demiyelinize plaklar vardır.

A proliferation-inducing ligand (APRIL) bazı inflamatuvar hücrelerden salgılanan, nörolojik hastalıklarda düzeyi değişebilen, Tümör nekrotizan faktör (TNF) sitokin ailesinin bir üyesidir. Büyüme, maturasyon, farklılaşma ve B hücre sağkalımını regüle eder.

Visinin-like protein-1 (VSNL1), nöronal kalsiyum algılayıcı protein ailesinin bir üyesi olup Ca^{2+} bağımlı nöronal hasar ile ilişkilidir. Serebellar golgi, basket, granül, stellat ve dentat nükleus nöronlarında olduğu gibi; kortikal piramidal hücreler, internöronlar, septal nöronlar, subtalamik ve hipokampal nöronlarda da saptanmıştır.

Receptor for advanced glycation end products (RAGE), immünoglobülin süper ailesinin multiligand ve sinyal iletim reseptörüdür. Ateroskleroz ve immün-inflamatuvar yanıtta rol alan çoğu hücre tipi üzerinde eksprese olur. Serum düzeyi ölçülebilen formu sRAGE'dir.

Human neudesin (NENF, aday onkogen GIG47), SSS'de bolca eksprese edilen bir nörotrofik faktördür. Nöronal gelişim, fonksiyon ve sağkalım için önemlidir.

Aminoacylase-1 (ACY1) geniş bir doku ekspresyon yelpazesine sahip, +2 değerlikli çinko (Zn^{2+}) içeren sitozolik bir metalloenzimdir. En çok böbrekte ve ikinci sırada da SSS'de sentezlenir.

Çalışmamıza Haziran-2016 ve Mayıs-2017 tarihleri arasında, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi (MSKÜ) Araştırma hastanesinin Nöroloji polikliniğine gelen, MS tanısı almış, ek olarak karaciğer hastalığı, böbrek hastalığı ve başka bir inflamatuvar hastalığı olmayan 18-65 yaş arasında 32 hasta (15 aktif dönem ve 17 inaktif dönem) ve yine aynı yaş grubu aralığında

sağlıklı gönüllülerden oluşan 30 kişi kontrol grubu olarak dahil edildi. Hastalara nörolog tarafından, genişletilmiş özürülük durumu ölçeği anlamında olan Expanded disability status scale (EDSS) uygulandı. Çalışmada, MS'in farklı evrelerinde hastalıkla ilişkili olabilecek APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 gibi nörolojik hastalıklarla ilgili markerlerin serum düzeyleri, Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) yöntemi ile ölçüldü.

MS hastalarında kontrol grubuna göre çok yüksek anlamlılık düzeyinde, düşük ortalama serum APRIL düzeyleri saptanmıştır. Otoimmün, inflamatuvar bir hastalık olan MS'de hastaların tedavisinde kullanılan immünmodulator ilaçların anti-inflamatuvar etkilerinden dolayı, inflamasyon hallerinde artan APRIL düzeylerinin azalmış olabileceğini düşünüyoruz. Ayrıca MS hastalarında, APRIL ile hastalık süresi (yıl) arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon saptandı. Hastalık süresi arttıkça serum APRIL seviyesinin azalması ve oluşan nöronal dejenerasyona korele olarak serum APRIL seviyesinin düşmesi, ileride yapılacak yeni çalışmalar ışığında hastalığın prognozunu belirlemede bir belirteç olarak kullanılabilceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda, MS hastalarında kontrol grubuna göre çok yüksek anlamlılık düzeyinde, düşük ortalama serum VSNL1 düzeyleri tespit edildi. MS'de miyelin kılıf hasarı, aksonal hasar ve devamında nöron hasarı vardır. SSS'de VSNL1 eksprese eden nöronların kaybindan dolayı serum VSNL1 düzeylerinin azalmış olabileceğini düşünüyoruz. MS hastalarında kontrol grubuna göre yüksek anlamlılık düzeyinde, düşük ortalama serum sRAGE düzeyleri saptanmıştır. Bu bulgular, düşük sRAGE seviyelerinin artmış inflamatuvar cevaplarla bağlantılı olabileceği ve inflamatuvar bir hastalık olan MS patogenezi ile ilişkili olabileceğini ve ayrıca sRAGE'nin anti-inflamatuvar etkilerinden dolayı hastalığın tedavisi, hastalığın önlenmesi ya da hastalığın ilerlemesini yavaşlatabileceği yönünde yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir. MS hastalarında kontrol grubuna göre yüksek anlamlılık düzeyinde, düşük ortalama serum NENF değerleri saptanmıştır. MS'de SSS'deki nöron hasarından dolayı NENF sentezinin azalmış olabileceğini ve bunun düşük serum NENF düzeylerine neden olabileceğini ya da azalmış serum NENF değerlerinden dolayı nöronların inflamatuvar hücrelerin negatif etkileri karşısında korunamadığını ve bu durumun hastalık etyopatogenezine katkıda bulunmuş olabileceğini düşünüyoruz. İlaveten MS hastalarında, yaş ve serum NENF düzeyleri arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon saptandı. MS hastalığında yaş durumunun hastalığın prognozunu etkileyen faktörlerden biri olabileceğini ve NENF seviyesinin hastalık etyopatogenezine önemli katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir. MS hastalarında kontrol grubuna göre çok yüksek anlamlılık düzeyinde, yüksek ortalama serum ACY1 düzeyleri tespit edilmiştir. MS hastalarında mevcut inflamatuvar hücrelerin tetiklediği nöron hasarından dolayı

sitozolde bulunan ACY1'in ekstraselüler komponente geçmesi neticesinde, yüksek serum ACY1 düzeylerinin olabileceğini düşünüyoruz. Ayrıca MS hastalarında aktif ve inaktif dönemler arasında bu parametreler açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Bu da hastalığın aktif dönemini tetikleyen başka moleküllerin rol almış olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak MS etyopatogenezinde APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 moleküllerinin rol oynayabileceği ve bu moleküllerin hastalığın prognozu, hastalığın tedavisi, hastalığın önlenmesi ya da hastalığın progresyonunu yavaşlatabileceği yönünde yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir. Ayrıca bu parametreler ile EDSS arasında korelasyon izlenmedi.



SUMMARY

Multiple sclerosis (MS) is an immunologically-mediated, chronic, inflammatory and demyelinating disease of the central nervous system (CNS) with active and inactive periods. Women are almost twice as affected as men. Although etiology is still unclear, it is thought that autoimmune mechanisms triggered by genetic and environmental factors play an important role. Although it is typically seen as a T-cell mediated disease, there are findings that suggest that B cells also have a pathogenic role. Antibody development against both oligodendrocyte cells and myelin sheaths. There are inflammation, gliosis, loss of oligodendrocyte cells and demyelination. The axons are partially preserved. In MS pathophysiology, there are focal demyelinating plaques in mainly white matter. Focal demyelinating plaques may form in gray matter and cortex.

A proliferation-inducing ligand (APRIL) is a member of the Tumor necrosis factor (TNF) cytokine family, which is secreted from some inflammatory cells and the levels can be altered in neurological diseases. It regulates growth, maturation, differentiation and B cell survival.

Visinin-like protein-1 (VSNL1) is a member of the neuronal calcium-sensing protein family and is associated with Ca^{2+} dependent neuronal damage. It was determined in cortical pyramidal cells, interneurons, septal neurons, subthalamic and hippocampal neurons as like in cerebellar golgi, basket, granule, stellate and dentate nucleus neurons.

Receptor for advanced glycation end products (RAGE) is the multiligand and signal transduction receptor of the immunoglobulin superfamily. It is expressed on most cell types involved in the atherosclerosis and immuno-inflammatory response. The form which serum level can be measured is sRAGE.

Human neudesin (NENF, candidate oncogen GIG47) is a neurotrophic factor exaggerated in CNS. It is important for neuronal growth, function and survival.

Aminoacylase-1 (ACY1) is a cytosolic metalloenzymide containing +2 valent zinc (Zn^{2+}) with a broad spectrum of tissue expression. It is synthesized mainly in the kidney and secondarily in the CNS.

In this study, 32 patients who were diagnosed with MS who applied to Neurology policlinic of Muğla Sıtkı Koçman University (MSKU) Research hospital, between June-2016 and May-2017. 32 patients between the ages of 18-65 were diagnosed with MS. They had no liver disease,

kidney disease and other inflammatory disease. 15 of 32 patients were on active period and 17 of 32 patients were on inactive period. As a control group 30 healthy people at the same age group were included into the study. An Expanded disability status scale (EDSS) was administered by the neurologist. Serum levels of markers related to neurological diseases such as APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF and ACY1, which may be associated with disease at different stages of MS, were measured by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method.

MS patients had lower mean serum APRIL levels than the control group at a very high level of significance. We think that APRIL levels, which are increased in the presence of inflammation may have been reduced because of the anti-inflammatory effects of immunomodulatory drugs used in the treatment of patients in MS. In our study we also found a significant negative correlation between duration of illness (years) and APRIL in MS patients. The decrease in serum APRIL levels as disease duration increases and the decrease in serum APRIL levels as a correlate to neuronal degeneration suggest that it may be used as a marker to determine the prognosis of the disease with the contributions of new studies to be done in the future. In our study, low mean serum VSNL1 levels were determined in MS patients according to the control group at a very high level of significance. In Multiple sclerosis there are myelin sheath damage, axonal damage and subsequent neuronal damage. We think that low levels of VSNL1 may be present in the CNS due to the loss of VSNL1-expressing neurons. MS patients had lower mean serum sRAGE levels than the control group at a high level of significance. These findings suggest that low sRAGE levels may be associated with increased inflammatory responses and may be related to the pathogenesis of an inflammatory disease and because of the inflammation-reducing effects of sRAGE may also prevent of the disease, slow the progression of the disease or may be a guide for new studies on the treatment of disease. MS patients had lower mean serum NENF values than the control group at a high level of significance. We think that NENF synthesis may be reduced due to neuronal damage in the CNS in MS and this may lead to low serum NENF levels or because of decreased serum NENF values, we think that neurons can not be protected from the negative effects of inflammatory cells and may have contributed to the etiopathogenesis of the disease. In addition, negative correlation between age and NENF were found in MS patients. Age in MS suggests that the disease may be one of the factors affecting the prognosis of the disease and NENF level may contribute significantly to the etiopathogenesis of the disease. MS patients had higher mean serum ACY1 levels than the control group at a very high level of significance. We think that

high serum ACY1 levels may be due to extracellular component displacement of ACY1 in cytosol due to neuronal damage triggered by inflammatory cells present in MS patients. There was also no significant difference between active and inactive periods in MS patients in terms of these parameters. This results suggest that other molecules that trigger the active phase of the disease may have been involved.

As a result APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF and ACY1 molecules may play a role in the etiopathogenesis of MS. It is thought that these molecules may prevent of the disease and slow down the progression of the disease and it is needed new studies in determining the prognosis of the disease. Also, there was no correlation between these parameters and EDSS.



TEŞEKKÜR

Eğitim s¼recim boyunca beni her alanda yetiŐtiren, engin bilgilerini her zaman benimle paylaŐan T. Biyokimya Anabilim Dalı BaŐkanı Prof. Dr. İsmail etin ÖZT¼RK'e, çalıŐmamın her safhasında desteğini hiç eksik etmeyen T. Biyokimya Anabilim Dalı'nda tez danıŐmanım Doç. Dr. Nigar YILMAZ'a, numune toplamamda desteklerini esirgemeyen N¼roloji Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. G¼lnihal KUTLU, Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÜNAL, Dr. Dilek ASLAN ÖZT¼RK ve Dr. G¼lser KARADABAN EMİR'e, ayrıca Doç. Dr. Mustafa YILMAZ ve Uzm. Dr. Fatma K¼¼K'e, numuneleri çalışmamız için laboratuvarlarını kullanmamıza fırsat veren T. Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Tuba EDG¼NL¼'ye, tez çalıŐmamın istatistiğini yapmamda bana yardımcı olan Halk Sağlığı Anabilim Dalı'nda Dr. Volkan AKKAYA'ya ve kan alma birimindeki personel arkadaşlara, bu s¼rete yanımda oldukları için teŐekk¼r ederim.

Eğitim hayatımda her durumda yanımda olan, varlıklarıyla bana g¼ veren ailem ve eŐime teŐekk¼r ederim.

Dr. Ayhan ÇELİK

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY	iv
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	xiii
EKLER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. MULTİPL SKLEROZ	3
2.1.1. TANIM	3
2.1.2. TARİHÇE	3
2.1.3. EPİDEMİYOLOJİ	3
2.1.4. ETYOLOJİ	4
2.1.5. FİZYOPATOLOJİ	5
2.1.6. KLİNİK BELİRTİLER VE BULGULAR	8
2.1.7. HASTALIĞIN SEYRİ VE KLİNİK ALT TİPLERİ	10
2.1.8. TANI	11
2.1.8.1. BOS BULGULARI	16
2.1.8.2. UYARILMIŞ POTANSİYELLER	16
2.1.9. AYIRICI TANI	18
2.1.10. PROGNOZ	19
2.1.11. TEDAVİ	20
2.2. A PROLIFERATION-INDUCING LIGAND (APRIL)	26
2.3. VISININ-LIKE PROTEIN-1 (VSNL1)	30
2.4. RECEPTOR FOR ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS (RAGE) ...	34

2.5. HUMAN NEUDESIN	39
2.6. AMINOACYLASE-1	41
3. MATERYAL VE METOD	44
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ	67
KAYNAKLAR	68
EKLER	76
ÖZGEÇMİŞ	79



TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. MS tanısında Schumacher kriterleri	12
Tablo 2. MS tanısında McDonald tanı kriterlerinin yıllara göre sensitivite ve spesifite değerleri	13
Tablo 3. Revize McDonald 2010 MS tanı kriterleri	13
Tablo 4. Primer Progresif MS 2010 McDonald tanı kriterleri	15
Tablo 5. Mekan içinde yayılımın gösterilmesinde McDonald MRG kriterleri (Polman ve ark. 2011)	15
Tablo 6. Zaman içinde yayılımın gösterilmesinde McDonald MRG kriterleri (Polman ve ark. 2011)	16
Tablo 7. Patolojik olarak sınıflandırılmış ayırıcı tanı listesi	18
Tablo 8. Multipl skleroz prognozunda olumlu ve olumsuz faktörler	20
Tablo 9. Vaka (MS) ve kontrol grubunun demografik verileri	51
Tablo 10. Vaka (MS) ve kontrol grubunun özgeçmiş ve alışkanlıklarının karşılaştırılması ...	51
Tablo 11. MS hastalarının kullandığı MS ilaçlarının dağılımı	51
Tablo 12. Vaka (MS) grubu ile kontrol grubunun ortalama serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerleri açısından karşılaştırılması	52
Tablo 13. MS hastalarında ortalama serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerlerinin cinsiyet açısından karşılaştırılması	52
Tablo 14. MS hastalarında sigara içenler ile içmeyenlerin ortalama serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerleri açısından karşılaştırılması	53
Tablo 15. Aktif MS ve İnaktif MS hastalarının ortalama serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerleri açısından karşılaştırılması	53
Tablo 16. MS hastalarında serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerlerinin EDSS ile korelasyonu	54
Tablo 17. MS hastalarında hastalık süresi (yıl) ile serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 düzeyleri arasındaki korelasyon	54
Tablo 18. Serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerlerinin tüm olgulardaki (vaka + kontrol) yaş ile korelasyonu	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Multipl skleroz patogenezinde rol oynayan immün hücreler ve sitokinleri	7
Şekil 2. APRIL, homotrimer yapısı	26
Şekil 3. BAFF ve APRIL, E ve F tellerini birbirine bağlayan internal bir disülfid köprüsüne sahiptir	27
Şekil 4. APRIL bağlayıcı rezidüleri (yeşil renk)	27
Şekil 5. BAFF/APRIL sitokin sistemleri	28
Şekil 6. BAFF ve APRIL'ın reseptörleri ile olan ilişkileri	28
Şekil 7. Human VSNL1 (VILIP-1)'in diğer NCS proteinleriyle olan amino asit dizisi ilişkisi..	31
Şekil 8. Homoloji modeliyle oluşturulmuş VSNL1'in üç boyutlu yapısı	31
Şekil 9. AH'de Ca ²⁺ bağlayıcı proteinlerin nöroprotektif ve nörotoksik rolü.....	33
Şekil 10. AGE'lerin hücre dışı ve hücre içi etkileri	36
Şekil 11. Human neudesin'in (A) amino asit dizisi ve insan MAPR ailesindeki (B) hem/steroid bağlayıcı alanların karşılaştırılması	39
Şekil 12. İnsan yetişkin dokusunda, northern blot yöntemiyle ACY1 geninin gösterilmesi	42
Şekil 13.1. Vaka (MS) ve kontrol grubunun ortalama serum APRIL değerleri (ng/ml) açısından karşılaştırılması	55
Şekil 13.2. Vaka (MS) ve kontrol grubunun ortalama serum VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerleri (ng/ml) açısından karşılaştırılması	55
Şekil 14. MS hastalarında, hastalık süresi (yıl) ile serum APRIL düzeyleri (ng/ml) arasındaki korelasyon	55
Şekil 15. MS hastalarında, yaş ile serum NENF düzeyleri (ng/ml) arasındaki korelasyon	56
Şekil 16. Ortalama serum APRIL düzeyleri (ng/ml) açısından Vaka (MS) ile kontrol grubunun karşılaştırılması	56
Şekil 17. Ortalama serum VSNL1 düzeyleri (ng/ml) açısından Vaka (MS) ile kontrol grubunun karşılaştırılması	56

Şekil 18. Ortalama serum sRAGE düzeyleri (ng/ml) açısından Vaka (MS) ile kontrol grubunun karşılaştırılması	57
Şekil 19. Ortalama serum NENF düzeyleri (ng/ml) açısından Vaka (MS) ile kontrol grubunun karşılaştırılması	57
Şekil 20. Ortalama serum ACY1 düzeyleri (ng/ml) açısından Vaka (MS) ile kontrol grubunun karşılaştırılması	57



KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ACY1: Aminoacylase-1

ADEM: Akut dissemine ensefalomyelit

AGE: İleri glikasyon son ürünleri

AH: Alzheimer hastalığı

AKS: Akut koroner sendrom

APRIL: A proliferation-inducing ligand

Ark. : Arkadaşları

A/G: Adenin/Guanin

BAEP: Beyinsapı işitsel uyarılmış potansiyeller

BAFF: TNF ailesinin B hücresi aktive edici faktörü

Bcl-2: B hücresi lenfoma-2

BCMA: B hücresi maturasyon antijeni

BCR: B hücre reseptörü

BOS: Beyin omurilik sıvısı

Bp: Baz çifti

CD: Cluster of differentiation

CpG-ODN: Sitozin fosfat guanin-Oligodeoksinükleotit

CRD: Sisteinden zengin bölge

C/T: Sitozin/Timin

DM: Diabetes mellitus

EAE: Deneysel Otoimmün Ensefalomyelit

ECM: Ekstraselüler matriks

EDSS: Genişletilmiş özürülük durumu ölçeği

ERK: Ektraselüler sinyal düzenleyici kinaz

HLA: İnsan lökosit antijeni

HMGB-1: High mobility group box-1

ICAM-1: İnterselüler adezyon molekülü

IFN γ : İnterferon gama

IL: İnterlökkin

JAK: Janus kinaz

KAH: Koroner arter hastalığı

kDA: Kilo dalton

MAPK: Mitojenle-aktive Protein kinaz

MHC: Büyük doku uygunluk kompleksi

MRG: Manyetik rezonans görüntüleme

MS: Multipl skleroz

NCS: Nöronal kalsiyum sensör

NENF: Nöron-deriveli nörotrofik faktör

NF- $\kappa\beta$: Nükleer faktör-kappa β

OD: Optik dansite

OKB: Oligoklonal bant

PGRMC: Progesteron reseptör-membran bileşeni

PI3K: Fosfatidilinositol-3 kinaz

PKC- δ : Protein kinaz C delta

PPMS: Primer progresif Multipl skleroz

PRMS: Progresif relapsing Multipl skleroz

RAGE: Receptor for advanced glycation end products

RRMS: Relapsing/remitting Multipl skleroz

sAPRIL: Soluble a proliferation-inducing ligand

SCC: Skuamöz hücreli karsinom

SD: Standart deviasyon

SPMS: Sekonder progresif Multipl skleroz

SSS: Santral sinir sistemi

STAT: Sinyal transdüseri ve transkripsiyon aktivatörü

TACI: Transmembrane activator and calcium signal-modulating cyclophilin ligand interactor

TCR: T hücre reseptörü

TGF- β : Transforming growth factor β

Th: T helper

TNF- α : Tümör nekrotizan faktörü- α

VCAM-1: Vasküler hücre adezyon molekülü-1

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

VEP: Görsel uyarılmış potansiyeller

VSNL1: Visinin like protein-1

XIAP: X-linked inhibitor of apoptosis

EKLER DİZİNİ

Ek-1 Hasta Veri Formu76

Ek-2 EDSS.....77



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl skleroz (MS), Santral sinir sistemi (SSS) lezyonlarının nörolojik defektler nedeniyle ciddi fiziksel ve kognitif engelliliğe yol açabildiği, kronik, inflamatuvar bir hastalıktır (1). Genel olarak 20-40 yaş arasında başlar ve genç yetişkinlerde travmatik olmayan özür lülüğün önde gelen nedenidir (2, 3). Kadınlar, erkeklerden iki kat daha fazla etkilenmektedir (4). Dünya genelinde 2 milyondan fazla insanın MS hastalığına sahip olduğu tahmin edilmektedir (5). Türkiye’de sıklığı kesin olarak bilinmemekle birlikte, 40/100000 civarında olduğu tahmin edilmektedir (6).

Multipl sklerozun etyolojisi tam olarak bilinmemekle beraber sigara, D vitamini eksikliği, güneş ışığına azalmış maruziyet ve bazı enfektif ajanlar gibi çevresel faktörler ile bir takım genetik faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir (2, 7).

MS fizyopatolojisinde beyaz cevher ön planda olmak üzere, gri cevher ve korteksi de etkileyebilen fokal demiyelinize plaklar vardır (8). Genelde aksonlar korunur, ama kısmi etkilenmeler olabilir (9). MS, tipik olarak T hücre aracılı bir hastalık olarak görülse de, B hücrelerinin de patojenik bir rolü olduğunu destekleyen bulgular vardır (2).

MS sinsi başlangıçlı olup, kliniği anatomik olarak tutulan yere göre değişir (2). En sık karşılaşılan ilk belirti, duyu sal belirtilerdir. Motor belirti ve bulgular, görsel belirti ve bulgular, serebellar belirti ve bulgular, mesane işlev bozuklukları, cinsel işlev bozukluğu, kognitif işlev bozuklukları, yorgunluk ve duygulanım bozuklukları gibi diğer klinik belirti ve bulgular da görülebilir (10-12).

Relapsing/remitting MS (RRMS), Sekonder progresif MS (SPMS), Progresif relapsing MS (PRMS), Primer progresif MS (PPMS) gibi klinik alt grupları vardır (2, 13-18).

APRIL: TNF sitokin ailesinin bir üyesidir (19). Büyüme, maturasyon, farklılaşma ve B hücre sağkalımını regüle eder (20). Nötrofil, makrofaj, kemik iliği stromal hücreleri, monosit, dendritik hücre ve T hücreleri tarafından solubl bir protein olarak salgılanır (20, 21). Bazı tümörler tarafından da eksprese edilir. Hem normal hem de tümör hücre çizgileri üzerinde, in vitro ve in vivo proliferatif bir etkiye sahiptir (22).

VSNL1: Nöronal kalsiyum algılayıcı protein ailesinin bir üyesidir (23). İntraselüler kalsiyum düzeylerine cevap olarak, Adenilil siklaz enziminin aktivitesini düzenler (24). Serebellar golgi, basket, granül, stellat ve dentat nükleus nöronlarında olduğu gibi, kortikal piramidal hücreler, internöronlar, septal nöronlar, subtalamik ve hipokampal nöronlarda da

saptanmıştır (25). Ca^{2+} bağımlı nöronal hasar ile ilişkilidir. Değişmiş Ca^{2+} dengesinin oluşturmuş olduğu patolojik mekanizmalara katılır (26, 27).

RAGE: İmmünoglobülin süper ailesinin multiligand ve sinyal iletim reseptörüdür (28). Normal doku ve damarlarda minimal olarak eksprese edilir. AGE ligandları arttığında RAGE'nin de düzeyi artar (29). Ateroskleroz ve immün-inflamatuar yanıtta rol alan çoğu hücre tipi üzerinde eksprese olur (28, 30).

NENF: Membran ilişkili progesteron reseptör ailesinin bir üyesidir. G proteine bağlı reseptörler üzerinden, intraselüler sinyal yollarını aktive eder. Tümör oluşumunu stimüle edebilir (31).

ACY1: Çoğu dokuda eksprese edilen sitozolik bir enzimdir (32). Birçok kanser çeşidinin proliferasyonunu regüle etmede önemlidir. Kolorektal tümör dokusunda ekspresyonu artmıştır (33, 34). Küçük hücreli akciğer kanseri ve Renal hücreli karsinomda, ekspresyonu azalmıştır (32, 33). En çok böbrekte ve ikincil olarak da SSS'de sentezlenir (35-37).

Bu çalışmada MS hastalığında APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 parametrelerinin serumda seviyelerinin değerlendirilmesi, hastalığın prognozunda etkili olup olmadıkları, hastalığın aktif ve inaktif dönemlerinde seviyelerinin değerlendirilmesi, hastalık etyopatogeneziyle ilişkisinin araştırılması, hastalığın teşhisine ve tedavisine etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MULTİPL SKLEROZ

2.1.1. TANIM

Multipl skleroz, aktif ve inaktif dönemleri olan, tipik olarak kadın cinsiyette insidansının yüksek olduğu, SSS'nin kronik, dejeneratif, otoimmün, inflamatuvar ve demiyelinizan bir hastalığıdır (1, 5, 38-40).

MS, genç yetişkinlerde SSS'nin en sık görülen ilerleyici hastalığıdır ve çalışma çağındaki yetişkinlerde, ciddi fiziksel engelliliğin travmadan sonraki en yaygın nedenidir (41, 42).

2.1.2. TARİHÇE

Hastalığın patolojik tanımlaması, ilk olarak Cruveilhier tarafından 1835 yılında yapılmıştır. Carswell (1838) ve Cruveilhier'in (1841) hastalık ile ilgili araştırmalarını, Charcot (1868, 1880) daha detaylı olarak klinik ve patolojik çalışmalar ile ilerletmiştir. Dejong (1970) ise ilk defa hastalık ile ilgili tüm bilgileri bir araya toplamıştır (43).

2.1.3. EPİDEMİYOLOJİ

MS, yaşam kalitesini önemli derecede düşürür. Hastalık, sağlık sistemleri ve toplum için önemli maliyetlere sebebiyet verir (2, 44).

Koch-Henriksen and Sørensen tarafından yapılan çalışmalarda, MS prevalansı ve insidansının giderek arttığı bildirilmektedir (44).

MS'in prevalans oranlarının, kıta ve coğrafi enleme göre değiştiği rapor edilmiştir. Avrupanın kuzeyi ve Kuzey Amerika yüksek prevalans (100.000'de 30'dan fazla); Avrupa'nın güneyi ve Amerika Birleşik Devletleri'nin güneyi (100.000'de 5-30) ile merkez ve güney Amerika (100.000'de 10-20) orta prevalans grubunda iken, Asya ve Güney Amerika ise düşük prevalans (100.000'de <5) grubunda yer alır. Avrupa, MS tanısı konan küresel nüfusun yarısından fazlasını içeren, yüksek bir prevalans bölgesi (Kurtzke tarafından $\geq 30/100.000$ yaygınlık olarak tanımlanmaktadır) olarak kabul edilmektedir (5). Kuzey Avrupa kökenli beyazlarda oldukça yaygındır, ancak beyaz olmayanların yaşadığı yerlerde, düşük gelirli

ülkelerde ve tropik bölgelerde daha az görülür (2). Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 400.000 kişiyi ve dünya genelinde ise 2 milyondan fazla kişiyi etkilemektedir (7). Tahmini insidans yılda 100.000'de 7'dir ve başlangıç yaşı ortalama 30 yıldır (5).

Ülkemizde hastalık prevalansı ve insidansına ilişkin ayrıntılı çalışmalar bulunmamaktadır. MS'in Türkiye'deki epidemiyolojik verileri, kuzeybatı kesimindeki Edirne kenti için bildirildi. 2003 yılında prevalans 100.000'de 30, kadın/erkek oranı 2.3'tü ve vakaların %76'sı RRMS klinik alt tipindeydi (45). Yıllık ortalama insidans 3.48/100.000 idi (46).

2.1.4. ETYOLOJİ

MS'in etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Büyük olasılıkla çevresel ve genetik faktörler arasındaki karmaşık etkileşimler sonucu oluşur. Oluşan normal bağışıklık yanıt miyelin kılıfına, oligodendrositlere, aksonlara ve nöronlara zarar verir. MS duyarlılığını etkileyen bilinen en güçlü genetik faktör insan lökosit antijeni (HLA)-DRB1*1501 haplotipidir (44, 47). Ancak bu durum, MS'in gelişimi için şart değildir, çünkü riski sadece 2-4 kat artırır ve sağlıklı bireylerin yaklaşık %20-30'unda bu haplotip mevcuttur. Genetik bir yatkınlık için ilave kanıtlar şunlardır: MS hastalarının birinci derece akrabalarında risk 20-40 kat, dizigotik ikizlerde sadece %5, monozigot ikizlerde %25-30 artar. Bununla birlikte, tek yumurta ikizlerinin yaklaşık %70'i MS riski taşımaz, bu nedenle çevresel faktörler ve diğer bilinmeyen etkiler hastalık duyarlılığına katkıda bulunur (2). 2003'te Barcellos ve ark. ile 2011'de Sawcer ve ark. tarafından yapılan bazı çalışmalar, birkaç gen lokusunu risk faktörü olarak ortaya çıkardı. Bunlar arasında büyük doku uygunluk kompleksi (MHC) HLA DR15/DQ6 alleli en güçlü olanıdır (7). Bir başka kaynakta ise birçok genin MS duyarlılığı ile ilişkili olduğu ve özellikle MS için genetik riskin %50'sinden sorumlu olan genlerin, büyük doku uygunluk kompleksini (HLA DRB1*1501, HLA DQA1*0102, HLA DQB1*0602) kodlayan genler olduğu belirtilmiştir. Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları neticesinde, interlökin-17 (IL-17) ve IL-2 reseptörünü kodlayan genlerin, IL-12 α ve IL-12 β gibi sitokinlerle ilişkili genler ve Cluster of differentiation 80 (CD80), CD86 ve CD37 gibi ko-stimülatör moleküller ile ilişkili genlerin, MS için risk faktörleri olabileceği düşünülmüştür (4). Daha yakın zamanlarda, IL-2 reseptör α geninin ve IL-7 reseptör α geninin allelleri de kalıtsal risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (7).

Güneş ışığına azalmış maruziyet ve sonuç olarak D vitamini eksikliği, sigara, EBV başta olmak üzere diğer virüsler ve diğer enfektif ajanlar gibi çevresel faktörler, MS patogenezinde rol oynayabilir (1, 2, 7, 48). Güneş ışığına daha yüksek maruz kalmanın ve dolayısıyla ultraviyole ışınımının MS'in düşük insidansıyla ilişkilendirildiği hipotezi, enlem tabanlı

gözlemlere uyar. Ancak istisnalar mevcuttur. İsraili doğan Afrika kökenli bireyler, göçmen seleflerine göre daha yüksek MS oranlarına sahiptir, ancak aralarında güneş ışığına maruziyet açısından fark yoktur. D vitaminin immunmodülatör olması ve MS etyopatogenesizinde otoimmünitenin rol alması, vitamin D eksikliğinin MS için bir risk faktörü olduğunu düşündürmektedir (2). Munger ve ark. 2004 ve 2006 yıllarında yaptığı çalışmalarda, bazı duyarlı hasta populasyonlarında, D vitaminin koruyucu rolü olduğunu öne sürmüştür (7). 2013'te Ascherio tarafından yapılan bir çalışmada, MS gelişme riski, çocukluk döneminde EBV enfeksiyon öyküsü bulunan bireylerde yaklaşık 15 kat, ergenlik çağı ve sonrasında EBV ile enfekte olanlarda ise yaklaşık 30 kat daha fazla olduğu belirtilmiştir (7). Bazı bakteriler (akinetobakter türleri, klamidy pnömönia, psödomonas aeruginosa), mikobakteriler ya da helmintler ile maruziyet güçlü bir şekilde olmasa da MS ile ilişkilendirilebilir (2). Wingerchuk (2012) ve Fragoso (2014) tarafından yapılan çalışmalarda, sigara içenlerin sigara içmeyenlere kıyasla MS gelişme olasılığı oranı, yaklaşık 1.5 olarak tespit edilmiştir (7).

2.1.5. FİZYOPATOLOJİ

MS, SSS'de beyaz cevherin ön planda tutulduğu, korteksin ve gri cevherin de etkilenebildiği fokal demiyelinize plaklarla karakterize bir hastalıktır. MS'in belirti ve bulguları SSS içerisindeki inflamasyon, demiyelinizasyon ve akson hasarı gibi durumlara bağlı olarak ortaya çıkar. Genelde aksonlar korunur, ancak akut atakta bile bazı plaklarda orta derecede akson kaybının olabileceği gösterilmiştir. Normal miyelinli akson ile demiyelinize aksonların fizyolojik olarak karşılaştırılması, klinik özellikleri ve belirtileri açıklamada yardımcı olabilir (9).

Deneyisel alerjik ensefalomyelit (EAE), MS lezyonlarının histopatolojik çalışmaları ve MS hastalarının serum ve beyin omurilik sıvılarındaki immünolojik belirteçler üzerine yapılan çalışmalar, MS'in immün aracılı bir hastalık olduğunu düşündürmektedir. Bir virüs, bakteri veya diğer çevresel toksinler genetik olarak duyarlı kişilerde bağışıklık yanıtına neden olabilir (2).

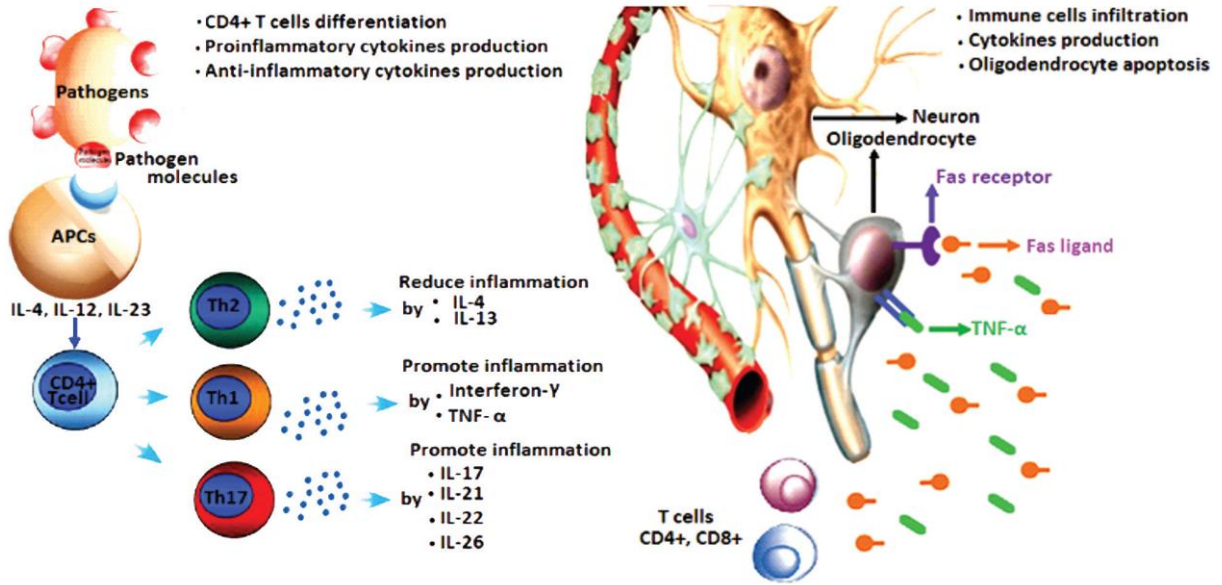
Çoğu çalışma, MS lezyonlarında CD8+ T hücrelerinin (veya sitotoksik T hücreleri) hakim olduğunu göstermiştir (49). Bu hücreler, perforin gibi sitolitik proteinlerin üretimi vasıtasıyla CD4+ T hücrelerinin baskılanmasına ve inaktivasyonuna aracılık eder. Dahası, bu hücreler

vasküler geçirgenliği iyice arttırır, glial hücreler oligodendrosit ölümünü tetikler ve bu da MS patogenezinde önemli rol oynar (1).

Antijen sunucu hücreler, periferdeki CD4+ Th hücrelerine ilgili antijeni sunarlar. Bu da onları aktive eder ve otoreaktif pro-inflamatuar Th1 ve bunun alt grubu olan Th17'nin oluşmasına yol açar. Aynı zamanda B lenfositler ve monositler de aktive olur. Bu otoreaktif T hücreleri, SSS venüllerinin endotel yüzeyi üzerindeki adezyon molekülleri ile etkileşime girerek antikorlar ve monositler ile beraber, bozulmuş kan-beyin bariyerini, proteazların ve kemokinlerin yardımıyla geçerler (2, 50).

SSS'de hedef antijenler (myelin bazık protein, miyelin ile ilişkili glikoprotein, miyelin-oligodendrosit glikoprotein, proteolipit protein, fosfodiesterazlar ve S-100 proteini gibi antijenler) tanınır. T hücreleri yeniden aktive edilir ve immün cevap amplifiye olur. Pro-inflamatuar Th hücreleri proliferer olur ve B hücreleri, antikor salgılayan plazma hücrelerine dönüşürken, monositler aktive makrofaj haline gelir. İnflamatuar sitokinler (örn; IL-12, IL-23, interferon gama (IFN γ), tümör nekrozing factor (TNF- α), proteazlar, serbest radikaller, antikorlar, nitrik oksit, glutamat ve miyelin ile oligodendrositlerin hasar görmesine neden olan diğer stres faktörleri, bu immün hücreler tarafından üretilir (2). IFN γ ve TNF- α , doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık için kritik olan pro-inflamatuar sitokinlerdir. Th1 hücreleri tarafından üretilen bu sitokinler, Th2 farklılaşmasını bastırarak inflamasyonu indükleme kabiliyetine sahiptir. Th2 hücreleri, immün yanıtı baskılayan Transforming growth factor- β (TGF- β) ve anti-inflamatuar sitokinler olan IL-4, IL-5 ve IL-13'ü salgılar (1). Th17 (IL-17 ürettiği için Th17 olarak bilinir) inflamasyona yol açan çok sayıda sitokini (IL-17, IL-21, IL-22 ve IL-26) indükleyen diğer bir CD4+ T hücresidir (1, 2). EAE gelişiminde kritik olan TNF- α ve Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör de dahil olmak üzere bir dizi sitokin salgırlarlar. Hasar derecesi ve lokalizasyona bağlı olarak, nörolojik semptomlarla sonuçlanabilecek miyelinizasyon bozukluğu ya da sinir iletisi blokajı görülebilir (2, 51). SSS inflamasyonuna ek olarak, oligodendrosit ölümüne bağlı miyelin onarımı da bozulmuştur. Fas ligandı (FasL), lenfosit hücreleri tarafından üretilir. Bu ligand, bu hücrelerin apoptozis sürecini başlatan oligodendrosit hücrelerindeki Fas reseptörlerine (TNF reseptör süper ailesine ait hücre yüzeyi reseptörü) bağlanır. Dolayısıyla, miyelin sentezleyen hücrelerinin sayısı azalır ve miyelin kılıfının sentezi bozulur (1). Oligodendrositlerden trofik destek kaybı, aksonlarda dejenerasyona yol açarak irreversible nörolojik defisitler oluşturabilir. İnflamasyonun rezolüsyonu, adaptif mekanizmalar (örneğin; sodyum kanallarının yeniden düzenlenmesi) ya da remiyelinizasyon durumunda semptomlar kendiliğinden düzelebilir (2, 52, 53).

MS'li hastalar, sağlıklı insanlara göre daha yüksek IL-23 seviyeleri salgılayan monosit türevi dendritik hücelere sahiptir. Aktif MS hastaların serumunda, inaktif hastalarla kıyaslandığında daha yüksek seviyelerde IL-17 mRNA taşıyan mononükleer hücreler bulunmuştur (2).



Şekil 1. Multipl skleroz patogenezinde rol oynayan immün hücreler ve sitokinleri (1).

MS, tipik olarak T hücre aracılı bir hastalık olarak görülse de, MS'li hastalarda intratekal immüoglobülin üretiminin sık gözlemlenmesi, MS lezyonları içindeki özgül miyelin antijenlerine karşı gelişen antikorların tanımlanması, antikor ilişkili demiyelinizasyonun olması ve sekonder progresif MS hastalarının meninkslerinde B hücre foliküllerinin olması, B hücrelerinin patojenik bir rolü olduğunu desteklemektedir. Ayrıca, MS hastalarının BOS'unda hafıza B hücrelerinin seçici bir şekilde fazlalığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar, antijenle aktive edilen B hücrelerinin SSS'de klonal genişleme ve farklılaşma geçirdiğini ve SSS'nin B hücresi gelişimine uygun bir ortam sunduğunu göstermektedir (2, 21).

MS plakları baskın olarak beyin, spinal kord, optik sinirler ve periventriküler beyaz cevherin tutulduğu, değişken inflamasyon ve aksonal kayıp ile karakterize demiyelinizasyon odaklarıdır (49, 54). Ayrıca serebral korteksin subpial alanlarını da içerebilir. Plaklarda aktive makrofaj/mikroglialar, plazma hücreleri, B hücreleri ve aktif T hücrelerinden (ağırlıklı olarak CD8+ T hücreler ve değişken miktarda CD4+ T hücreler) oluşan inflamatuvar infiltratlar yer alır

(50, 55). Akut evrede (aktif plak) lenfositler, mikroglia ve makrofajları içeren mononükleer hücreler miyelini ve değişken derecede oligodendrositleri yok eder. Miyelin enkazı makrofajlar tarafından toplanır ve parçalanır. Erken dönemde makrofajlar miyelin parçalarını daha sonra, miyelinin kimyasal bozunumu neticesinde oluşan proteinler ve lipidleri içerir. Bu evrim birkaç hafta sürer. Zamanla gliozis (skar) gelişir. (49, 54). MS plakları histolojik olarak akut, kronik ve remiyelinize plaklar olarak sınıflandırılırlar. Aktif lezyonlar RRMS'de sıktır ve oligodendrosit kaybı, miyelin yıkımı (göreceli aksonal korunma ile), miyelin yüklü makrofajlar, plazma hücreleri, lenfositler tarafından yoğun perivasküler infiltrasyon ve parankimal ödem, reaktif astrositoz, hipertrofik astrositler ve küçük astroglial skar oluşumu gibi belirsiz hatlara sahiptir. Kronik ya da inaktif plaklar progresif hastalıkta daha sık görülür (2, 41, 54). Daha geniş demiyelinizasyon, belirgin aksonal kayıp ve oligodendrosit kaybı vardır. Akut inflamasyon göreceli olarak yoktur (7, 50). Lipid ve miyelin yüklü makrofajlar, hipertrofik astrositler, bazı dejeneratif aksonlar, miyelinin makrofajlar tarafından fagositize edilen damlacıkların içinde miyelinin bozulması ve immünoglobülin biriktirme ile ilişkili demiyelinizasyon gibi keskin hatlara sahiptir. Kronik lezyonlar, ayrıca oligodendrositlerde ve remiyelinizasyonda bir artış gösterebilir (2). Remiyelinize plaklar, aktif plakların daha çok kenarında olmak üzere içinde de görülür ve ince miyelinize aksonlar içerir. Bu plaklarda sıklıkla oligodendrosit öncü hücrelerinde artış vardır. "Shadow plaques" denilen gölge plaklar, daha diffüz remiyelinizasyon gösteren plaklardır ve progresif-relapsing formunda görülür (7, 50). Lucchinetti ve ark. 4 farklı immünopatolojik patern tanımlamışlardır. Bunlar, T hücre ve makrofajların baskın olduğu patern 1, ek olarak immünglobülin ve kompleman birikiminin olduğu patern 2, apoptotik oligodendrosit kaybının olduğu patern 3 ve oligodendrositlerin nonapoptotik ölümünün olduğu ve nadir görülen patern 4, şeklinde sıralanır (7). Bunlar MS hastaları arasında patolojik heterojenitenin olduğunu düşündürür. Bununla birlikte, gözlemlenen patolojik heterojenite, MS hastalarının bir alt grubuna özgü olmayabilir ve muhtemelen belirli bir hastadaki hastalık evresi ile ilişkilidir (7).

2.1.6. KLİNİK BELİRTİLER VE BULGULAR

MS sinsi başlangıçlı olup, klinik bulguları çok değişkendir ve hastaların yaklaşık %10'u kademeli olarak kötüye gitmektedir. Lezyonun bulunduğu bölgeye ve doku hasarının derecesine bağlı olarak ortaya çıkan semptomlar, hafif ile şiddetli arasında değişir. Bir MS alevlenmesinin ortak semptomları yorgunluk, karıncalanma, zayıflık, dengesizlik, bulanık

görme, çift görme, baş dönmesi, mesane veya bağırsak disfonksiyonudur. Yüz zayıflığı, trigeminal nevralji, işitme kaybı ve konuşma bozukluğu daha az görülür (2).

Belirti ve bulgular 3 grupta toplanabilir. Demiyelinizasyon sonucu gelişen primer belirtiler; optik nörit, parezi, spastisite, duyuusal bozukluklar, nöropatik ağrı, dengesizlik, mesane-barsak sorunları, yorgunluk, cinsel işlev bozuklukları ve bilişsel işlev bozukluklarını içerir. Primer belirtiler sonucu gelişen komplikasyonlar olan ikincil belirtiler ise; dekübit yaraları, megakolon kontraktürler, idrar yolu infeksiyonları, osteoporoz ve kas atrofileridir. Kronik bir hastalığa eşlik eden psikolojik, mesleki ve sosyal sorunlar da hastalığın tersiyer belirtilerini oluşturur (10).

Duyusal belirtiler: MS'de en sık karşılaşılan ilk belirti duyuusal belirtiler olup, hastalığın seyri boyunca hastaların yaklaşık %90'ında ortaya çıkar (11). Duyu kaybı, paresteziler, dizestezi ve hiperesteziler sıktır. Lhermitte belirtisi, trigeminal nevralji, nöropatik ağrı ve derin duyu bozukluğu MS hastalarında görülebilen diğer duyuusal yakınmalardır (10).

Motor belirti ve bulgular: Paraparezi, kuadriparezi, hemiparezi ve monoparezi şeklinde olabilir. Bacaklarda kollardan daha belirgin olan, yürüme ve dengeyi bozabilen spastisite belirtileri; ekstansör ve fleksör spazmlar, özürülülüğün nedeni olabilir. Kas atrofisi, genellikle kullanılmamaya bağlı olarak gelişir (12).

Görsel belirti ve bulgular: Hastaların %30'unda hastalığın başlangıç belirtisi görme ile ilgilidir. Optik nörit sıklığı % 14-23 arasında belirtilmiştir. Optik sinir, beyin sapı ve serebellar tutulumun sık olması nedeniyle, görme azlığı, diplopi ve osilopsi, MS'de sık rastlanan belirtiler arasındadır. MS'de etkilenen bölgelere bağlı olarak hastaların %75'i, hastalık sürecinde göz hareket bozukluklarından bir veya birkaçıyla karşılaşabilir (56).

Serebellar belirti ve bulgular: Dismetri, disdiadokinezi, aksiyon tremoru, kompleks motor hareketlerin bozulması ve denge kaybı, serebellar tutulumla bağlı olarak görülebilir (10). Yürüme ataksisi, başlangıç semptomu olarak %11 oranında bulunmuştur (12).

Mesane işlev bozuklukları: Çok sık idrara çıkma, yetiştirememe gibi üriner şikayetler hastalık seyri boyunca hastaların %80'inde görülebilmekte olup, %5'inde ilk belirti olarak ortaya çıkar (10).

Cinsel işlev bozukluğu: Multipl skleroz hastalarının 2/3'ünde, libido azalması vardır. Erkeklerde ereksiyon problemleri ve kadınlarda vajinal kayganlıkta azalma, başlıca cinsel işlev bozukluklarıdır (57).

Kognitif işlev bozuklukları: Hastaların %40-60'ında ortaya çıkar. Kortikal, subkortikal ve limbik sistem yollarının etkilenmesi neticesinde dikkat, yakın bellek, mekânsal ve görsel algılamada bozulma görülebilir (58).

Yorgunluk: MS hastalarının yaklaşık %50-60'ı yorgunluktan şikayetçidir (59). Yorgunluk sıcakta, nemli ortamlarda ve öğleden sonra daha kötüdür. Sıcağa karşı aşırı duyarlılık "Uhthoff fenomeni" olarak bilinmekte olup artan vücut ısısının, demiyelinize aksonda impuls iletimini bozmasıyla ortaya çıkar. Ayrıca, yorgunluğun SPMS'li hastalarda RRMS'li hastalara göre daha sık görüldüğü belirtilmiştir (10).

Duygulanım bozuklukları: Depresyon, anksiyete ve bipolar bozukluk hastalık seyrinde sık görülür. İntihar girişimi, normal popülasyona göre daha fazladır (12).

2.1.7. HASTALIĞIN SEYRİ VE KLİNİK ALT TİPLERİ

Relapsing/remitting MS (RRMS): MS hastaların %85-90'ı atak ve düzelmelerle giden RRMS formunda başlar. Progresyon olmadan arada remisyonların olduğu, akut ataklarla karakterizedir (2, 13). Genellikle izleyen haftalar ve aylar içerisinde, tam iyileşme gözlenir. Ataklar arasında nörolojik durum normaldir (57).

Sekonder progresif MS (SPMS): En az bir nöksün ardından zamanla ilerleyen klinik kötüleşme ile karakterizedir. SPMS, RRMS'nin başlangıcından en az 3 yıl sonra görülür ve RRMS hastalarının% 90'ı 25 yıl sonra SPMS'e dönüşür. SPMS ilerledikçe hastalar genellikle daha fazla özürlü olurlar ve bu MS formu hastalıkta görülen engelliliğin çoğunu açıklar. Burda arada relapslar olsun ya da olmasın, kademeli maluliyet birikimi vardır (60).

Progresif relapsing MS (PRMS): Başlangıçtan itibaren progrese olan ve aralarda atakların bulunduğu bir MS formudur. Olguların % 5'inden daha azını oluşturan, nadir görülen bir formdur. Remisyon dönemleri yoktur (61).

Primer progresif MS (PPMS): Nörolojik fonksiyonların sürekli ve kademeli olarak bozulduğu Primer progresif form, olguların %10-15 kadarını oluşturur (2, 13, 60). Başlangıçtan

itibaren yavaş ilerleyen bir özürülük vardır ve klinik olarak çoğu hastada ilerleyici miyelopati veya ilerleyici serebellar disfonksiyon vardır. PPMS erkeklerde ve daha yaşlı hastalarda daha sık görülür (60).

Benign MS: Ciddi sekel bırakmayan, seyrek ataklarla karakterize, Manyetik rezonans görüntüleme (MRG)'de düşük lezyon yükünün saptandığı, retrospektif olarak konulan bir tanıdır. Hastalığın başlangıcından 15 yıl sonra, EDSS skorları 3'ten küçük olan hastalar, benign MS olarak kabul edilir (18).

Klinik izole sendrom (KİS): Hastaların yüzde 90'ında, klinik izole sendrom olarak adlandırılan bir nörolojik disfonksiyon, hastalığın başlangıç habercisi olabilir. Bu nörolojik disfonksiyonlar optik nörit, inkomplet transvers miyelit, beyin sapı ya da serebellar sendromdur. KİS hastalığın ilk klinik prezentasyonudur. Ancak MS tanısı için gerekli olan zaman içinde yayılım kriterini tam olarak karşılamamaktadır (2, 14, 15).

Radyolojik izole sendrom (RİS): Hastalık semptom ve bulgusu olmaksızın, baş ağrısı gibi başka sebeplerle çekilen kraniyal MRG'lerde mekanda yayılım özellikleri gösteren, korpus kallosum tutulumu olan veya olmayan, ovoid, iyi sınırlı, 3 mm'den büyük, T2 görüntülemeye hiperintens, MS'i telkin eden beyaz cevher lezyonları olan hastalardaki durum RİS olarak adlandırılır. Yapılan bir çalışmada RİS tanısı alan olgulara 5 yıl sonra MS tanısı konma oranı %34 olarak saptanmakla birlikte bu olguların %9,6'sı da PPMS tanısı almıştır (16). RİS'ten KİS'e dönüş için geçen süre ise ortalama 2,3 yıldır. Sağlıklı bireylere kıyasla, RİS'li olgularda talamik volümde azalma ve kortikal incelme belirgin olarak saptanmıştır (62). Kortikal lezyonlar özellikle frontotemporal bölgede fazla olarak bulunmuştur (17).

Son yıllarda, MS'in primer ve sekonder progresif formlarının alt tiplerine ilişkin öneriler, bir tanımlamaya dönüştürülerek, her iki tip için de aktif-inaktif ve progresif-stabil şeklinde alt tipler belirlenmiştir. Bu sistemde aktif ve inaktif olma, ataklara ve MRG'ye göre, progresif veya stabil olma ise özürülük skorlarına göre saptanmaktadır (13).

2.1.8. TANI

Teşhis klinik öykü, nörolojik muayene, MRG ve diğer tanısal olanakların dışlanması ile kombinasyon halinde yapılır. Paraklinik testler olarak bilinen BOS analizi, uyarılmış potansiyeller, mesane fonksiyonu ile ilgili ürodinamik çalışmalar ve oküler koherens tomografi

çalışmaları, tanı konulmasında yardımcı olabilir, ancak şart değildir (63). BOS analizinde inflamatuvar markerler olan oligoklonal bant ve yükselmiş IgG indeksi anlamlıdır. Uyarılmış potansiyel durumlar görsel, beyinsapı ve spinal kord yollarında sessiz klinik lezyonları aramak için önemlidir. Link ve Huang, 2006 yılında yaptığı çalışmada MS hastalarının yaklaşık %85'inde BOS inflamatuvar markerlerinin mevcut olduğunu tespit etmiştir (64). Awad ve ark. 2010 yılında yaptığı çalışmada, IgG indeksinin (IgG indeksi = (BOS IgG/Serum IgG)/(BOS albumin/serum albumin)) 0,7'nin üzerinde olması, MS lehine değerlendirilir) oligoklonal bantlara göre daha az sensitif ve daha az spesifik olduğunu belirtmiştir (7, 65).

MS için ilk olarak 1965'te, Schumacher tarafından, öykü ve muayene bulgularına dayandırılarak tanı kriterleri ortaya konulmuştur (Tablo 1) (66).

Tablo 1. MS tanısında Schumacher kriterleri (66).

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none">1) Muayenede nesnel SSS işlev bozukluğu2) Ak madde yapılarının etkilenmesi3) SSS'de 2 ya da daha fazla bölgenin etkilenmesi4) Relapsing-remitting ya da progresif seyir (>6ay)5) 10-50 yaş aralığında başlaması6) Belirti ve bulguların bu alanda çalışan uzman nörolog tarafından daha iyi bir açıklamasının olmaması |
|--|

2001 yılında, McDonald ve ark. tarafından MRG'den yararlanarak, olası ve kesin MS için gereken zaman aralığını belirlemede ayrıntılı ölçütler belirlendi. Bu ölçütlerle tanısal değerlendirmenin sonucu MS, olası MS ve MS değildir olarak gruplandı (67).

Bu ölçütler, 2005 yılında Amerikan MS Derneğinin bir komitesi tarafından yeniden gözden geçirilerek genişletilmiştir. 2010 yılında kullanımı kolaylaştırmak ve tanıyı daha erken aşamalarda koymak amacı ile tekrar düzenlenip sadeleştirilmiştir (Tablo 3). Bununla birlikte, MS hastalarında yaklaşık %85 oranında pozitif saptanan OKB ve görsel uyarılmış potansiyel tetkikleri, 2010 tanı kriterleri içinde yer almamıştır. Progresif MS tanısında BOS bulguları tanıda kullanılmaya devam edilirken, mekanda yayılım kriterleri revize edilmiştir (68).

Tablo 2. MS tanısında McDonald tanı kriterlerinin yıllara göre sensitivite ve spesifite değerleri (69).

	Sensitivite (%)	Spesifite (%)
McDonald 2001	47	91
McDonald 2005	60	88
McDonald 2010	72	87

Tablo 3. Revize McDonald 2010 MS tanı kriterleri (68).

Klinik prezentasyon	MS tanısı için gerekli ek veriler
≥ 2 atak; ≥ 2 lezyonun objektif klinik bulgusu ya da önceki atağın tarihsel kanıtı olan 1 lezyonun objektif klinik bulgusu	Ek test yapılmasına gerek yoktur ^a
≥ 2 atak; 1 lezyonun objektif klinik bulgusu	Mekan içinde yayılımın gösterilmesi için; <ul style="list-style-type: none">• MS için tipik 4 SSS bölgesinin (periventriküler, jukstakortikal, infratentoryal, spinal kord)^b en az 2'sinde ≥ 1 T2 lezyon varlığı ya da• Farklı bir SSS bölgesinde lokalize olan bir atağın daha olmasını beklemek
1 atak; ≥ 2 lezyonun objektif klinik bulgusu	Zaman içinde yayılımın gösterilmesi için; <ul style="list-style-type: none">• Herhangi bir zamanda çekilen MRG'de gadolinyum tutan ve tutmayan lezyonların eş zamanlı varlığı ya da• Referans alınan bazal MRG'nin zamanından bağımsız olarak çekilen takip MRG'de yeni T2 veya gadolinyum tutan lezyon(ların) varlığı ya da• İkinci bir klinik atağı beklemek

<p>1 atak; 1 lezyonun objektif klinik bulgusu (KİS)</p>	<p>Zamanda ve mekanda yayılımın gösterilmesi için;</p> <p>Mekan içinde yayılım;</p> <ul style="list-style-type: none"> • MS için tipik 4 SSS bölgesinin (periventriküler, jukstakortikal, infratentoryal, spinal kord)^b en az 2'sinde ≥ 1 T2 lezyon varlığı ya da • Farklı bir SSS bölgesinde lokalize olan bir atağın daha olmasını beklemek <p>Zaman içinde yayılım;</p> <ul style="list-style-type: none"> • Herhangi bir zamanda çekilen MRG'de gadolinyum tutan ve tutmayan lezyonların eş zamanlı varlığı ya da • Referans alınan bazal MRG'nin zamanından bağımsız olarak çekilen takip MRG'de yeni T2 veya gadolinyum tutan lezyon(ların) varlığı ya da • İkinci bir klinik atağı beklemek
<p>MS'i düşündüren sinsi nörolojik progresyon (PPMS)</p>	<p>1 yıllık hastalık progresyonu ve aşağıdaki ölçütlerin 3'ünden en az 2'sinin varlığı^b</p> <ul style="list-style-type: none"> • Beyinde mekan içinde yayılım bulguları: Periventriküler, jukstrakortikal ve infratentoryal alanlarda ≥ 1 T2 lezyon varlığı • Spinal kordda mekan içinde yayılım bulguları: Spinal kordda ≥ 2 T2 lezyon varlığı • Pozitif BOS (OKB ve/veya artmış IgG indeksi varlığı)
<p>Kriterler yerine getirilirse ve klinik sunum için daha iyi bir açıklama yoksa tanı "MS"dir; şüphe varsa, ancak ölçütler tamamen yerine getirilmemişse, teşhis "olası MS"dir; değerlendirme sırasında, klinik sunumu daha iyi açıklayan başka bir tanı ortaya çıkarsa, teşhis MS değildir.</p> <p>Ateş veya enfeksiyon olmadan, SSS'nin akut inflamatuvar demiyelinizan hastalığını düşündüren, hastanın belirttiği veya objektif olarak gözlenen, SSS'de o anda veya geçmişe ait en az 24 saat süren olaya atak denir.</p> <p>a: Görüntüleme veya diğer testlerin (örneğin BOS) yapılması ve negatif olması durumunda, MS teşhisi konmadan önce dikkatli olunması ve alternatif tanılarının düşünülmesi gerekir. Klinik tablo için daha iyi bir açıklama olmamalı ve MS tanısını desteklemek için objektif kanıt mevcut olmalıdır</p> <p>b: Gadolinyum tutan lezyonlar gerekli değildir; semptomatik lezyonlar, beyinsapı veya spinal kord sendromlu kişilerde dikkate alınmaz.</p>	

Tablo 4. Primer Progresif MS 2010 McDonald tanı kriterleri (68).

1 yıldan beri hastalık progresyonu ve aşağıdaki parametrelerin 3' te 2'si

- Mekanda yayılım kanıtı için beyinde en az 1 karakteristik bölgede (periventriküler, juksta kortikal, infratentoryal) ≥ 1 T2 lezyon
- Mekanda yayılım kanıtı için spinal kordda ≥ 2 T2 lezyon
- Pozitif BOS bulguları (Oligoklonal bantların izoelektrik odaklı kanıtı ve/veya yüksek IgG indeksi)

(Beyin sapı ve spinal semptomatik lezyonlar hariç)

MS tanısı için klinik bulguların zaman ve mekan içinde yayılımının olması gerekmektedir. Mekan içinde yayılım multifokal tutulumu gösterir iken, zaman içinde yayılım ise atakları ve progresyonu gösterir.

Tablo 5. Mekan içinde yayılımın gösterilmesinde McDonald MRG kriterleri (Polman ve ark. 2011) (7).

SSS'nin aşağıdaki 4 alanın en az ikisinde ≥ 1 T2 lezyon^a varlığı

- Periventriküler
- Jukstakortikal
- İnftratentoryal
- Spinal kord^b

a: Mekanda yayılım için gadolinyum tutan lezyonlar gerekli değildir.

b: Bir kişide beyin sapı veya spinal kord sendromu varsa, semptomatik lezyonlar kriterlerden çıkarılır ve lezyon sayısına eklenmez.

Tablo 6. Zaman içinde yayılımın gösterilmesinde McDonald MRG kriterleri (Polman ve ark. 2011) (7).

1. Takiplerde zamandan bağımsız olarak bazal MRG ile karşılaştırıldığında yeni T2 ve gadolinyum tutan lezyon veya lezyonların varlığı
2. Herhangi bir zamanda çekilen MRG’de gadolinyum tutan ve tutmayan lezyonların eş zamanlı varlığı

2.1.8.1. BOS BULGULARI

MS’e özgül bir BOS belirteci yoktur. Hastaların %50-60’ında BOS’ta hücre sayısı, 5-35 hücre/mm³’tür. Hücre sayısının 50 hücre/mm³’den yüksek olması MS’de çok sık karşılaşılan bir durum değildir. Fakat akut dissemine ensefalomyelit (ADEM) gibi MS varyantlarında fazla sayıda hücre bulunabilir. BOS’ta glukoz ve laktat normaldir. MS’lilerin %50’sinde BOS’ta total protein hafif yükselmiştir (50-70 mg/dl). Spinal kordda genişleme varsa total protein yüksektir (>100 mg/dl). MS’de en önemli laboratuvar bulgularından biri BOS’ta artmış oligoklonal IgG’dir. İlk demiyelinizan olayda, intratekal IgG artışının olmasının kötü prognozla ilişkisi olabileceği öne sürülmüştür (70, 71). Hem OKB pozitifliği hem de artmış IgG indeksi, intratekal IgG sentezini gösterir. OKB, batı toplumlarında MS olgularının yaklaşık %95’inde pozitifdir; IgG indeksi ise hastaların yaklaşık %70’inde yüksek bulunur. (64).

2.1.8.2. UYARILMIŞ POTANSİYELLER

Demiyelinizasyon odaklarının yarattığı elektrofizyolojik değişiklikler, uyarılmış potansiyeller ile gösterilebilir ve subklinik lezyonları saptamada oldukça yararlıdır. Poser ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, MS tanısı alan 11 hastanın 7’sinde vizüel uyarılmış potansiyellerde, 3’ünde beyin sapı uyarılmış potansiyellerde ve 10’unda somatosensoriyel uyarılmış potansiyellerde anormallik saptandı (72). Görsel uyarılmış potansiyeller (VEP), özellikle MRG anormalliklerinin az olduğu durumlarda (örn; ilerleyici miyelopati ile beraber olan PPMS’li hastalarda) veya MRG anormalliklerinin daha düşük özgüllüğü olduğunda (örn; mikrovasküler iskemik hastalık için risk faktörlerine sahip olan yaşlı bireylerde veya teşhis için MRG özgüllüğü kriterlerini karşılamayan anormal radyolojik bulguları olan bireylerde) ek

destek sağlayabilir. Uyarılmış potansiyel analizin diğer türleri, MS'in teşhisine pek katkıda bulunmadığı düşünülmektedir (67).

Görsel Uyarılmış Potansiyel (VEP): Retina ışık ile uyarıldığında, striat ve ekstrasariat korteks tarafından biyoelektrik sinyalleri oluşturulur. Bu sinyaller, saç derisi bölgesinin üzerinde bulunan elektrodlar tarafından toplanır (73). VEP'ler öncelikle optik sinirler vasıtasıyla retinadan beynin görsel korteksine kadar, görsel yollarının işlevsel bütünlüğünü ölçmek için kullanılır (74). VEP kayıtlarında elde edilen en önemli değer P100 dalgasıdır. Optik sinir ve maküler lifler MS hastalarında görme yollarının en sık etkilenen kısımlarıdır. Bu klinik ya da subklinik etkilenme P dalgasının latansı, amplitüdü ve şekli ile değerlendirilir. Demiyelinizasyonun en önemli elektrofizyolojik yansıması olan iletim gecikmesinin göstergesi, latans uzamasıdır (75, 76). Akut atağı takiben VEP kısmen düzelme gösterir ama P100 latansları hemen her zaman uzamış olarak kalır (77). VEP optik sinir, kiazma veya traktuslardaki plakları göstermede sensitiftir, ancak özgül değildir (77, 78).

Beyin Sapı İşitsel Uyarılmış Potansiyeller (BAEP): Bir kulağa işitsel uyaran verilmesinin ardından, temporal korteks üzerinden yanıtın kayıt edilmesi esasına dayanır. Uyaran, incelenen kulakta kısa süreli kare dalga şeklinde klik uyarıdır. Diğer kulağa ise eş zamanlı maskeleme uyarısı verilir. Koklear sinir, koklear nükleus, trapezoidal cisimcik ve süperior olivar nükleus, lateral lemniskus aracılı yolun değerlendirmesini sağlar (79). Beyin sapı fonksiyonel bütünlüğü bu yöntemle incelenebilir. MS'li hastalarda BAEP ile birçok araştırma yapılmıştır. BAEP'in erken tanıda katkısı olduğu gösterilmiştir. Kesin MS'lilerde %47-%93, beyin sapı semptom ve bulguları olmayanlarda da %20-50 BAEP anormaliği rapor edilmiştir (80).

Somatosensoriyel Uyarılmış Potansiyeller (SEP): Duyusal sinir ya da miks sinirin periferde uyarılması ve yanıtların primer duyusal kortekse kadar olan yol üzerinden kayıt edilmesi esasına dayanır. SEP'ler MS'li hastaların %65-80'inde anormaldir (81).

Motor Uyarılmış Potansiyeller (MEP): Genellikle saçlı deriden transkraniyal manyetik stimulyasyonla periferde ilgili kaslardan elde edilen motor potansiyellerdir (75). Beyin ve spinal korddaki kortikospinal yolların fonksiyonları ile ilgili bilgi verir (82, 83).

2.1.9. AYIRICI TANI

Tablo 7. Patolojik olarak sınıflandırılmış ayırıcı tanı listesi (84).

1. MS varyantları <ul style="list-style-type: none">- Balo'nun konsantrik sklerozu- Schilder hastalığı- Marburg hastalığı
2. Overlap Sendromlar <ul style="list-style-type: none">- Optik nörit yapan nedenler- Transvers miyelit/miyelopati yapan nedenler
3. Diğer demiyelinizan hastalıklar <ul style="list-style-type: none">- Devic's sendromu/hastalığı- Akut disemine ensefalomyelit (ADEM)
4. Serebrovasküler hastalıklar <ul style="list-style-type: none">- Laküner enfarktlar- CADASIL- Antifosfolipid antikor sendromu
5. Enfeksiyon hastalıkları <ul style="list-style-type: none">- HIV- HTLV-1- Lyme- Nörosifiliz- Brusellozis- Progresif multifokal lökoensefalopati (PML)
6. Vaskülitler-konnektif doku hastalıkları <ul style="list-style-type: none">- SLE- Sjögren hastalığı- Behçet hastalığı- Poliarteritis nodosa (PAN)
7. Granülamatöz hastalıklar <ul style="list-style-type: none">- Sarkoidoz- Wegener granülamatözisi
8. Dismyelinizan hastalıklar (Lökodistrofiler) <ul style="list-style-type: none">- Metakromatik lökodistrofi

- Adrenomyelolökodistrofi
- Krabbe hastalığı

9. Diğer

- Arnold Chiari malformasyonu
- Vitamin B12 eksikliği
- Malignite
- Mitokondriyal hastalıklar
- Herediter spastik paraparezi

2.1.10. PROGNOZ

MS’de özürllük durumu EDSS ile değerlendirilir. EDSS, 1961 yılında Kurtzke tarafından oluşturulmuştur. EDSS puanı göz önüne alınarak MS’in prognozunu tayin etme konusunda birçok çalışma vardır. EDSS, her bir basamağındaki artış ile işlevlerde kötüleşmeyi gösteren, 10 basamaklı bir ölçektir. Puanlama piramidal, serebellar, beyin sapı, duysal, görsel, barsak-mesane ve mental olmak üzere 7 farklı sistemdeki puanlarla ifade edilen, yürüyebilirlik ve çalışma yeteneğinin ölçülmesine dayanır. 0’ın anlamı belirti ve bulgu yok demektir; 1-3 hafif özürllük ile hiç bulgu eşlik etmemesi ya da yürümede minimal bozulma ile birlikte dir. 3,5-5,5 orta derecede bir özürllüğü gösterir ve yürümede bir bozukluk tabloya eşlik eder. 100 m yürümek için bastona ihtiyaç olduğunda EDSS puanı 6,0’dır. EDSS’de 8,0 puan, tekerlekli sandalyeye mutlak bağımlılığı gösterir. EDSS puanı 10 ise MS nedeniyle ölümü ifade eder (85).

MS hastalarında prognoz, ataklarla doğrudan ilişkilidir. İlk 5 yıl içindeki atak sayısı ve tipi hastalık progresyonun öngörülmesi açısından önem taşır. İlk yıllarda atak sayısının fazla olması, atakların birden çok semptomla ortaya çıkması, motor sistemi içermesi, serebellar ya da spinal atak formunda olması kötü prognoz göstergeleri iken; duysal ataklar, atak sayısının az olması, optik nöritle giden ataklar ve sekelsiz iyileşme iyi prognostik özelliklerdir (13).

Tablo 8. Multipl skleroz prognozunda olumlu ve olumsuz faktörler (86).

Olumlu faktörler	Olumsuz faktörler
Kadın cinsiyet	Erkek cinsiyet
Erken yaşta başlangıç	Geç yaşta başlangıç
Optik nörit, sensoryel monosinaptik başlangıç	Başlangıçta piramidal, serebellar, spinal ve/veya sfinkter disfonksiyonu bulguları
İlk atağın sekelsiz ve çabuk düzelmesi	İlk atağın sekelli olması ve uzun sürede düzelmesi
EDSS 3 olana kadar geçen sürenin uzun olması	İlk 5 yılda orta derecede özürllülüğe ulaşılması
Ataklarla seyir ve seyrek atak	Progresif seyir
Düşük sosyoekonomik düzey	Yüksek sosyoekonomik düzey

2.1.11. TEDAVİ

MS’de tedavi temel olarak Atak tedavisi, Semptomatik tedavi, İmmünomodülatör tedavi ve İmmünsüpresif tedavi olmak üzere başlıca dört bölümde incelenebilir (87).

Genel olarak hastalığın seyrini değiştirmek için immünomodülatör ajanlar; yorgunluk, spastisite, mesane disfonksiyonu ve ağrı gibi özgül semptomların azaltılmasında semptomatik tedavi uygulanır. Kortikosteroidler (metilprednizolon) ve adrenokortikotropik hormon (ACTH), anti-inflamatuar ve immünomodülatör etkilere sahiptir ve genellikle iyileşmeyi hızlandırmak için akut relaps tedavisinde kullanılırlar. İmmünomodülatör tedaviler uzun dönem hastalık modifikasyonunda kullanılır (7).

1) ATAK TEDAVİSİ: Atak, 24 saatten uzun süren, altta yatan herhangi bir enfeksiyon olmadan ortaya çıkan, nörolojik defisitte kötüleşme ya da yeni ortaya çıkan nörolojik defisit şeklinde tanımlanabilir (88). Yapılan çalışmalarda MS atak tedavisinde, yüksek doz intravenöz metilprednizolon en etkili tedavi olduğu bildirilmiştir (89). Steroidler uzun yıllar boyunca MS tedavisinde kullanılmıştır. Sitoplazmik reseptörlere bağlanarak nükleusun içine girerek IL-1, IL-2, TNF- α gibi pro-inflamatuar sitokinlerin transkripsiyonunu ve plazminojen aktivatörü, kollajenaz, elastaz gibi pro-inflamatuar enzimleri inhibe eder (89). Ayrıca lenfosit aktivasyonunu inhibe eder, pro-inflamatuar sitokin üretimini ve SSS’ye immün hücrelerin migrasyonunu azaltır. Bu durum beyin MRG aktivitesini azaltır (kontrast tutan lezyon sayısını

azaltarak). Diyabet, hipertansiyon, osteoporoz gibi hastalıklara yol açabilen yan etkileri nedeniyle kullanımı kısıtlıdır (90). Steroid tedavisine yanıtız olgularda plazmaferez ve intravenöz immünoglobülin diğer tedavi seçenekleri olabilir (89).

2) SEMPTOMATİK TEDAVİ: Diğer tüm tedavilerde olduğu gibi hasta odaklı olmalı ve hastanın gereksinimlerini dikkate alarak seçilmelidir. Hastayla tedavi yönteminin seçimi, beklenen sonuçlar ve olası yan etkiler tartışılmalıdır (87).

Spastisite: MS'de en sık görülen semptomlardan biridir. Bacaklarda güçsüzlükle birlikte, yürüme güçlüğü'nün en önemli nedenlerindendir. %75'e varan sıklıkta görülür. Kortikospinal yolun hasarı ve lokal spinal nöronlarla duyuşal afferent yolların uygunsuz aktivitesinden kaynaklanır. Alt ekstremitelerde üst ekstremitelere göre daha sık görülür. Tedavi edilmemesi ya da yetersiz tedavi durumunda yürümede zorlanma, klonus, spazmlar, ağrı, tremor ve dengesizliğe neden olabilir. İleri evrelerde oturma sorunları, bası yaraları, fibröz kontraktürler ve kötü perineal hijyene bağlı idrar yolları ve cilt enfeksiyonlarına neden olabilir. Lokal spastisitede fizyoterapi ve botulinum toksini ön plana çıkarken yaygın spastisitede ilaç tedavisi birinci sırada yer almaktadır. Baklofen, GABA B reseptörlerine bağlanarak spinal reflekslerin eksitator aktivitelerini inhibe ederek etki gösterir. Klinik uygulamada, özellikle spinal kord tutulumuna bağlı spastisite başta olmak üzere baklofen ilk seçenek olarak düşünölmelidir. Spastisite tedavisinde kullanılan diğer birinci sıra ilaçlar ise tizanidin ve benzodiyazepinlerdir. Spastisite tedavisinde kullanılan ikinci sıra ilaçlar ise gabapentin, kanabinoidler, dantrolen, tolperizon, intratekal baklofen, intratekal fenol ve botulinum toksinidir (87).

Ağrı: MS'de sıklıkla görülür. Hastalığın erken döneminde bile yakınma konusu olur ve genellikle ağırdır. Ağrı sıklığını %30 ile %90 arasında bildiren çalışmalar vardır. Nörojenik kaynaklı olabileceği gibi nörojenik olmayan ağrı da görölebilir. Kimi hastalarda her iki tipte ağrı kombine biçimde izlenebilir. Nörojenik ağrılar paroksizmal (trigeminal nevralji, ağrılı tonik spazmlar, L'hermitte fenomeni gibi) ya da persistan (ekstremitelerle gövdenin yanıcı dizestezileri gibi) olabilir. Non-nörojenik ağrılar, genellikle kas-iskelet sistemi ve yumuşak doku ile ilgili anomalilere bağlıdır. Güçsüzlük, hareketsizlik ya da spastisite bu ağrıların ortaya çıkmasını tetikler. Transkutanöz elektriksel sinir uyarımı (Transcutaneous electrical nerve stimulation-TENS) kronik sırt ağrısında kullanılabilir. Bel ve sırt ağrısında bir başka olası yaklaşım da spinal kord stimölasyonudur (87).

MS'e bağlı paroksizmal ağrıların tedavisi;

- Trigeminal nevralkji: Karbamazepin/Okskarbazepin, lamotrijin, gabapentin, topiramet, mizoprostol
- Ağrılı tonik spazm: Karbamazepin, gabapentin, tiagabin, botulinum toksin A, sodyum kanal blokerleri
- L'hermitte Bulgusu: Antiepileptikler, sodyum kanal blokerleri
- Nöropatik ağrı: Amitriptilin, pregabalin, gabapentin, lamotrijin, kanabinoidler, intratekal baklofen, intratekal morfin, nörostimülasyon (87).

Ataksi ve tremor: Serebellar ataksi, sıklıkla tremorla birlikte ve genellikle istemli hareketler ve pozisyonun sürdürülmesi çabası sırasında ortaya çıkar. Tremor, MS'de sıkça görülen bir semptomdur ve hastaların yaklaşık yarısında görülür. Propranolol, klonazepam, levetirasetam, izoniyazid (yan etkiler nedeniyle kullanımı zordur) ve karbamazepin kullanılabilir (87).

Yürüme bozukluğu: Uzun etkili 4-aminopiridin yürüme becerisinde, yürüme bozukluğunun nedeninden bağımsız olarak, olumlu etki göstermiştir (91).

Mesane işlev bozuklukları: MS'de mesane işlev bozuklukları pontin ve sakral idrar merkezlerinin bağlantılarının, spinal kord patolojisine bağlı olarak bozulmasından kaynaklanır. Mesane yetmezliğinin farmakolojik tedavisinde α blokerler kullanılabilir (92). Mesanenin aşırı aktivitesinde oral antimuskarinik ilaçlar etkilidir (93).

Barsak işlev bozuklukları: Konstipasyon ve fekal inkontinans şeklinde görülebilir.

Cinsel işlev bozuklukları: Tedavide, erkekler için sildenafil etkili bir biçimde kullanılmıştır. Kadınlarda androjen hormon tedavisi (metilttestosteron) ile östrojen kombinasyonu kullanılabilir (87).

Yorgunluk: İmmünomodülatör tedavilerden glatiramer asetat ve natalizumabın yorgunlukta azalmaya neden olduğuna ilişkin çalışmalar vardır (94, 95).

Bilişsel (kognitif) bozukluk: İnterferonların ve glatiramer asetatın bilişsel durumu düzeltici etkisi bildirilmiştir (96, 97).

3) İMMÜNOMODÜLATÖR TEDAVİ: İmmünomodülatör tedavi ile atak sıklığını azaltmanın yanında, hastalığın ilerleyişini engellemek, yani hastalığın doğal seyrini değiştirmek de amaçlanmaktadır. Bu grupta IFN β -1b, IFN β -1a, glatiramer asetat, natalizumab, fingolimod, teriflunomid, dimetil fumarat ve alemtuzumab yer alır (90).

Glatiramer asetat: Miyelin bazık proteinini andıran; glutamik asit, alanin, tirozin ve lizin aminoasitlerinden oluşan sentetik bir amino asit polimeridir. Bir pro-inflamatuar durumu anti-inflamatuar duruma çevirerek, aktif MRG lezyonlarının sayısını ve relaps oranını düşürür (90). Antijen sunumunu inhibe eder, antijene spesifik supresör T hücrelerin indüksiyonunu sağlar ve CD4 T hücrelerinin Th1'den Th2'ye dönüşümünü sağlar (98). MRG çalışmaları, glatiramer asetatın beyin hacminin kaybı ve kara delik oluşumu gibi doku dejenerasyonunun ölçümlerini etkilediğini göstermiştir; bu, ilacın remiyelinizasyonu sağlayabileceği hakkında fikir verebilir. Güvenilir bir ilaçtır, çünkü enjeksiyon sonrası sınırlı deri reaksiyonları gibi minör yan etkileri vardır. Flaşing, göğüs ağrısı, taşikardi, anksiyete, dispne diğer sınırlı ve nadir görülen yan etkilerdir (90).

IFN β -1a and β -1b: Rekombinant IFN β 'ların terapötik faydasının mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır, ancak baskılayıcı T hücresi fonksiyonunun güçlendirilmesi, IFN- γ etkilerinin inhibisyonu, T hücresi aktivasyonunun inhibisyonu veya IL-10 gen transkripsiyonunun indüklenmesi de olabilir. RRMS'de IFN β -1b'nin etkili olduğu gösterilmekle birlikte, fiziksel özürlülük ilerlemesi üzerinde hiçbir etkisi görülmemiştir. IFN β -1a ise aksine bedensel engellilikte süregelen ilerlemede önemli bir gecikme meydana getirdiği görüldü. Dolayısıyla profilaktik tedavide etkilidir. IFN β -1a, klinik nöksleri ve MR incelemeleri ile ortaya çıkan akut ve kronik beyin lezyonlarını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir (99). IFN β 'nın en sık görülen advers etkileri enjeksiyon sonrası grip benzeri sendrom, deri reaksiyonları, hafif lökopeni ve geri dönüşümlü tiroid ve karaciğer fonksiyon bozukluğudur (90).

Natalizumab: MS tedavisinde onaylanan ilk monoklonal antikör olan natalizumab, lenfosit yüzeyindeki α 4 integrin reseptörleri ile etkileşime girerek, bu hücrelerin kan-beyin bariyerlerine yapışmasını ve SSS'ye girmesini önler. Natalizumab yeni MRG lezyonlarının sayısını, relaps oranını ve progresyon olasılığını azaltır. Aksonal zarar mekanizmalarını inhibe eder. Natalizumab kullanımının en önemli yan etkisi, progresif multifokal lökoensefalopatidir (90).

Fingolimod: MS için uygulanan ilk oral tedavi yöntemidir. Lenfosit yüzeyleri üzerinde sentezlenen sfingozin-1 reseptörlerine bağlanarak, sekonder lenfoid organlardan dolaşımdaki kana T hücrenin migrasyonunu önler. Fingolimod verilen hastalarda MRG aktivitesi, relaps oranı ve beyin kaybı azalmış olarak tespit edildi. Bu bulgular, fingolimodun anti-inflamatuar ve nöroprotektif etkileri olabileceğini göstermektedir. Sfingozin-1 reseptörleri kardiyak dokuda da bulunduğu için bloke edilmeleri, bradikardi ve atriyoventriküler iletim gecikmesine yol açabilir. Bu nedenle, fingolimodun ilk uygulanmasından altı saat sonra kardiyovasküler izlem gereklidir. İlacın kullanımı, lökopeni ile ilişkili enfeksiyon riskini (çoğunlukla varicella-zoster virüsü ile ilgili) artırır, ayrıca maküla ödemi, artmış deri kanseri riski ve karaciğer fonksiyon bozukluğu gibi durumlar da yine ilaç kullanımına bağlı gelişebilir (90, 100, 101).

Dimetil fumarat: Oksidatif stresin sitotoksik etkilerine yanıt olarak, bir antioksidan yolun aktive edilmesi ve pro-inflamatuar sitokinlerin inhibe edilmesi yoluyla etkisini gösterir. RRMS’de ağızdan uygulanabilen bir tedavi seçeneğidir. Bir faz III çalışmasında, dimetil fumaratın MRG aktivitesini ve relaps oranını düşürdüğü gözlemlenmiştir. Bilinen yan etkiler gastrointestinal problemler, flaşing, lenfopeni ve karaciğer fonksiyon bozukluğudur (90, 102).

Teriflunomid: Aktif metaboliti leflunomidir. Primidin sentez yolağında görevli olan dihidroorotat dehidrojenaz enzimini inhibe ederek, stimüle edilmiş lenfositlerin proliferasyonunu ve aktivasyonunu bloke eder. Bu anti-inflamatuar etki kontrast tutan lezyon sayısını ve relaps oranını düşürür. Yan etkiler diyare, mide bulantısı, karaciğer enzim seviyelerinin yükselmesi ve saç dökülmesidir (90, 103, 104).

Alemtuzumab: B hücreli kronik lenfositik lösemnin tedavisinde henüz onaylanan alemtuzumab, dolaşımdaki lenfositlerin kökten tükenmesine yol açan CD52 antijenine yönelik bir monoklonal antikordur. Faz 2 ve 3 deneylerinde klinik ve MRG sonuçları, bu ilacın anti-inflamatuar etkinliğinin olduğunu göstermiştir. Klinik veya görüntüleme ile aktif hastalığı tanımlanan yetişkin RRMS hastalarında, bu ilaç Avrupa Tıbbi Ajansı tarafından onaylanmıştır. İdiyopatik trombositopenik purpura ve Graves hastalığı gibi otoimmün hastalıkları tetikleyebilmesi (%19’a kadar) gibi bir takım endişe verici yan etkileri vardır (90).

4) İMMÜNSÜPRESİF TEDAVİ

Mitoksantron: Hem immünomodülatör hem de immünsupresif etkinliği olan mitoksantron, sentetik antrasendion türevi bir anti-neoplastiktir. İlk kez akut miyeloid lösemi

tedavisi için onay almış olan bu ajan, kötüleşen RRMS ve SPMS hastalarında nörolojik progresyonu yavaşlattığı, atak sayısını azalttığı görülmüştür. Pro-inflamatuar sitokin salınımını, T ve B lenfositlerinin profilerasyonunu engelleyerek antikor sekresyonunu ve makrofaj proliferasyonu ile antijen sunumunu azaltarak, miyelin yıkımını engellemektedir (7, 105, 106).

Metotreksat: Dihidrofolat redüktaz enzimine inhibe ederek DNA sentezini bozan bir antimetabolittir. Plasebo kontrollü tek bir çalışmada progresif form MS'de terapötik etkisi gösterilmiştir, fakat RRMS'de etkinliğini gösteren yeterli çalışma bulunmamaktadır (107).

Siklofosamid: DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini ve çoğalmasını engelleyen alkilleyici bir ajandır (107). Aktif metabolitlerine karaciğerde dönüşen bir nitrojen mustard ön-ilaçtır. Hem B hem de T lenfosit üretimini azaltır, ancak baskın olarak CD4+ T hücrelerini etkiler. İmmünoglobülin üretimini de azaltır. Güçlü sitotoksik ve immünsüpresif etkilerinin yanında, Th1 hücrelerinin Th2'ye dönüşümünü sağlayarak immünmodülatör etki gösterir (108). Alopesi, bulantı-kusma, hemorajik sistit, lökopeni, infertilite ve pulmoner interstisyel fibrozis gibi yan etkileri vardır (107). Yapılan çalışmalarda, hem relaps hem de sekonder progresif hastalarda etkin olduğu anlaşılmıştır (108).

Mikofenolat mofetil: T hücreleri, B hücreleri ve makrofajlar içindeki DNA'da yer alan guanin nükleotitin de novo sentezinden sorumlu olan inozin monofosfat dehidrogenaz enzimini selektif, nonkompetatif ve reversibl olarak inhibe eden, güçlü bir immünsüpresandır (108). Progresif MS'de kısmen faydalı bulunmuştur. İnterferon tedavisi ile kombinasyon tedavisi daha etkindir (107).

Azatiyoprin: DNA nükleotitleri ile yarışan ve immünsüpresyona neden olan, 6-merkaptopürin ve tiyoinosin asidine metabolize olan, bir pürin analogudur. MS'de etkinliği net değildir. Dolayısıyla immünsüpresif ajanlardan tercih olarak siklofosamid ve mikofenolat mofetil kullanılır. Bir çalışmada, azatiyoprinin RRMS'i hafiflettiği sonucuna varılmıştır (108).

Rituximab: CD20'ye karşı geliştirilen monoklonal antikordur. Tedavi sonrası miyelin oligodendrosit glikoproteinine ve miyelin bazik proteinine karşı gelişmiş antikorlarda anlamlı değişiklik izlenmemiştir. Çalışmalarda kontrast tutan lezyonlarda azalma görülmüştür (109).

Daklizumab: IL-2'nin reseptörlerine bağlanmasını bloke eden immünglobulin G1 antikordur. Subkutan uygulanır. Çift kör faz II çalışmada kontrast tutan lezyon ve yeni lezyon sayısında azalma izlenmiştir (109).

2.2. A PROLIFERATION-INDUCING LIGAND (APRIL)

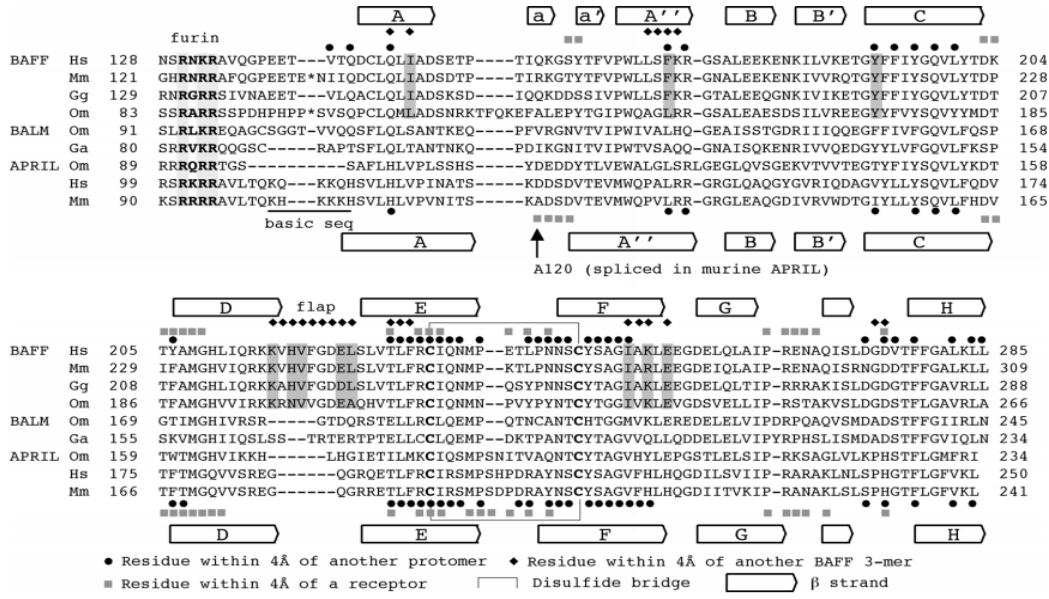
APRIL, TNF sitokin ailesinin bir üyesidir (19). Büyüme, maturasyon, farklılaşma ve B hücre sağkalımını regüle eder (20). Lenfoid dokuda düşük seviyelerde eksprese edilir ve bazı tümörler tarafından aşırı derecede eksprese edilir (22). İn vivo olarak nötrofil, makrofaj, kemik iliği stromal hücreleri, monosit, dendritik hücre ve T hücreleri tarafından solubl bir protein (sAPRIL) olarak salgılanır (20, 21). İn vitro olarak yine lipopolisakkarid ve $IFN\gamma$, dendritik hücrelerin APRIL üretimini indükler. Bu bulgular APRIL'ın doğuştan immünite ve inflamasyon ile ilişkili olabileceğini öne sürer (20).

APRIL, tip II membrana bağlı, 17. kromozomun kısa kolu (p) dediğimiz 17p13.1'de lokalizedir (19). APRIL için birçok aday klon bulunmuştur. Bu cDNA klonlarından ikisi, sırasıyla 1.5kb ve 1.7kb uzunluğunda, tahminen 28 amino asitlik sitoplazmik alanı, bir hidrofobik transmembran bölgesi ve 201 amino asitlik bir hücre dışı alanı olan, toplamda 250 amino asitten oluşan bir proteini kodlar. Sinyal peptidi yoktur. Bu protein için öngörülen tekli N-bağlantılı glikozilasyon bölgesi (N124), antiparalel β sandviç yapısı içine kıvrılmış birkaç β ipliğin ilkinde yer alır. APRIL'ın hücre dışı alanının dizilimi, FasL (%21 amino asit özdeş) ve TNF- α (%20) ile en yüksek homoloji gösterir (110).

TNF ve ilgili ligandlar homotrimer olarak toplanır ve TNF ailesinin B hücresi aktive edici faktörü (BAFF) ve APRIL kurallara bir istisna değildir. Her APRIL ve BAFF protomeri, A'AHCF ve B'BGDE tellerini içeren iki β tabakadan oluşur. A, C, E, F ve H telleri en korumalı ve trimer arayüzünün çoğunu oluşturmaktadır. Bu arayüz, trimer oluşumunu yönlendiren ana kuvvetler gibi görünen hidrofobik etkileşimler bakımından zengindir. BAFF ve APRIL, E ve F tellerini birbirine bağlayan internal bir disülfid köprüsüne sahiptir (Şekil 3) (111).

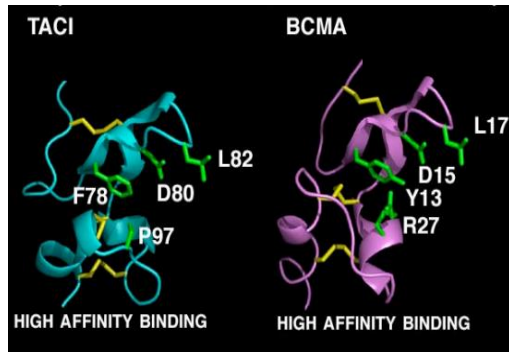


Şekil 2. APRIL, homotrimer yapısı (111).



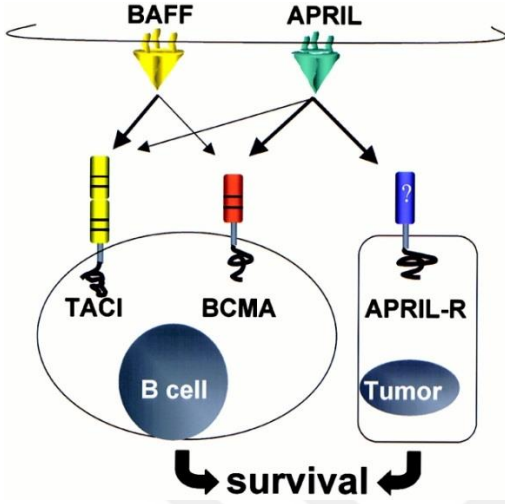
Şekil 3. BAFF ve APRIL, E ve F tellerini birbirine bağlayan internal bir disülfid köprüsüne sahiptir (111).

APRIL, hem normal hem de tümör hücre çizgileri üzerinde *in vitro* ve *in vivo* proliferatif bir etkiye sahiptir (22). APRIL, B hücrelerinin proliferasyonunu ve onların uzun ömürlü plazma hücrelerine dönüşmesine aracılık eder (20). APRIL plazma hücreleri üzerinde bulunan B hücresi maturasyon antijeni (BCMA), B hücreleri ve aktive edilmiş T hücreleri üzerinde bulunan transmembran aktivatörü ve siklofilin ligandı (TACI) ve plazma hücrelerinde syndecan-1 (CD138) olmak üzere 3 adet reseptöre bağlanır (112). TNF reseptör ailesinin üyeleri olan BCMA ve TACI reseptörleri üzerinden B hücre gelişiminin geç safhasına aracılık eder (20). Bu reseptörler, B hücresi aktive edici faktör reseptörleri olup hücre yüzeyinde yer alırlar (19). Her ikisi de, sistein açısından zengin bir hücre dışı alana sahip olan transmembran glikoproteinlerdir (113). TACI iki CRD içerir, BCMA sadece bir tane CRD içerir (111). TACI, 17. kromozomda lokalizedir (17p11.2) (19).

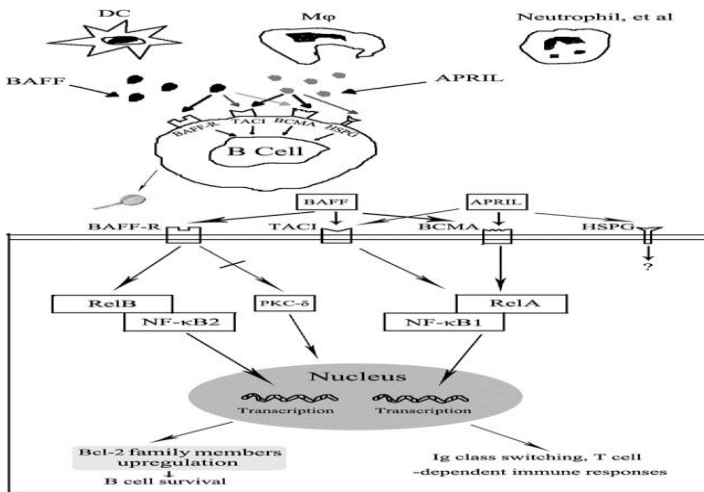


Şekil 4. APRIL bağlayıcı rezidüer (yeşil renk) (111).

APRIL, BCMA ve TACI'yı yüksek afinite ile bağlar. Her ne kadar BCMA, BAFF'a kıyasla APRIL için belirgin olarak daha yüksek afiniteye sahip olsa da, bu reseptörlerin her ikisinin de BAFF'ı da bağladığı gösterilmiştir (22).



Şekil 5. BAFF/APRIL sitokin sistemleri. Bu şema, iki TNF ilişkili sitokin BAFF ve APRIL'ı ve onların membrana gömülü, B lenfositler üzerinde eksprese edilen aynı kökenli reseptörleri olan TACI ve BCMA'yı ve epitelyum hücreleri üzerinde eksprese edilen aday APRIL'a spesifik bir reseptörü göstermektedir. Oklar, ligand-reseptör bağlanma etkileşimlerini gösterirken, kalın oklar tercih edilen bağlanma partnerlerini göstermektedir. TACI ve BCMA, hücre sağkalımını artıran sinyal iletim yollarını aktive eder. Tümör hücreleri aynı zamanda APRIL'ı eksprese eder ve bu nedenle B hücrelerini doğrudan TACI veya BCMA yoluyla aktifleştirebilirler (113).



Şekil 6. BAFF ve APRIL'ın reseptörleri ile olan ilişkileri. BAFF, BAFF-R ve TACI reseptörlerine yüksek afinite ile bağlanırken, BCMA reseptörlerine düşük afinite ile bağlanırlar.

APRIL ise TACI ve BCMA'ya bağlanır. BAFF-BAFF-R etkileşimi, klasik olmayan Nükleer faktör-kappa β 2 (NF- $\kappa\beta$ 2) yolağının aktivasyonunu veya Protein kinaz C delta (PKC- δ) nükleer translokasyonunun inhibisyonunu indükleyebilir, bu nedenle antiapoptotik B hücresi lenfoma-2 (Bcl-2) familyası üyelerinin ekspresyonu upregüle edilmiştir. TACI ve BCMA, klasik NF- $\kappa\beta$ yolunu kullanarak, inflamatuvar cevapları sürdürmek ve apoptozisi önlemek için sinyal oluşturabilir (114).

APRIL, etyopatogenezinde otoimmünite olduğu tespit edilmiş olan SLE, Romatoid artrit ve Sjögren sendromu gibi hastalıklarda da yüksek düzeylerde tespit edilmiştir (20, 112).

APRIL transkript seviyelerinin, normal dokularda düşük olduğu rapor edilmiştir, bunların arasında en üst düzeyler, periferik kan lökositlerindedir. Aksine, yüksek mRNA seviyeleri tümör hücre çizgilerinde ve çeşitli primer tümör dokularında tespit edilmiştir (115). Birçok solid tümöründe bol miktarda APRIL mRNA ekspresyonu olduğu gözlemlenmiştir. Burada, anti-APRIL antikoları kullanılarak insan solid tümörlerindeki çoğu vakada, tümör stromasında bulunan nötrofillerin APRIL'ın ana kaynağını oluşturduğu saptanmıştır (116). Buna ek olarak, endojen APRIL proteini, insan miyeloid lösemi hücre çizgilerinde de tespit edilmiştir. Bir glioblastom hücre hattının, APRIL ile transfeksiyon yoluyla, apoptozise dirençli hale getirildiği belirtilmiştir. Bu, apoptozis inhibitör ailesinin bir üyesi olan ve kaspaz aktivitesini azaltan, X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP)'ın upregülasyonu yoluyla olur. APRIL, görünüşe göre bu glioblastoma serisinde koruyucu bir madde gibi davranmaktadır (115). Malign glioblastoma hücre hatlarının APRIL'ı aşırı eksprese ettiği gösterilmiştir (22). Bununla birlikte, mevcut verilerin çoğu, APRIL'ın tümör hücresi çoğalmasını teşvik ettiğini göstermektedir (115). APRIL'a duyarlı tümör hücreleri, APRIL için en az bir ilave reseptör eksprese eder. Yakın zamanda, fibroblast ve epitelyal hücre hatlarının, henüz tanımlanmamış yeni bir APRIL reseptörünü eksprese ettiği bildirilmiştir (115).

Farelerde yapılan deneylerde, APRIL eksikliğinde kemik iliğinin plazma hücre sağkalımının destekleme yeteneğinin azaldığı saptanmıştır (20). Ancak insan B hücrelerinin gelişimine katkısı özellikle de plazma hücrelerine farklılaşması, tam olarak tanımlanmamıştır. İn vitro olarak, Ettinger ve ark. IL-21'in BCR ve CD40'ı stimüle etmesiyle, insan B hücrelerinin plazma hücresine dönüşümünü rapor etmiştir. Bazı plazma hücreleri kemik iliği yerleşimli ve terminal farklılaşmış plazma hücreleri için özgül bir marker olan CD138 ekspresyonu ile ilişkisi olup olmadığı belirsiz olsa da, yüzey marker olarak IGD-CD38'i ve BCMA'yı eksprese ederler. An-metile CpG-oligodeoksinükleotitler, BCR stimülasyonu yokluğunda, hafıza B hücrelerinin

plazma hücrelerine dönüşümünü indükler. Huggins ve ark. 3 aşamalı bir kültür sistemine CpG-ODN, CD40L, IL-2, IL-6, IL-10, IL-15 ve hepatosit growth faktör eklemesiyle, naif B hücrelerinin plazma hücrelerine dönüştüğünü ve plazma hücrelerinin CD138 ekspres ettiğini gözlemlemiştir (20). İn vitro olarak reseptör blokaj deneyleri, APRIL'ın TACI ve BCMA vasıtasıyla B hücrelerinin plazma hücrelerine dönüşümünde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (20).

MS hastalarında APRIL'ın B hücre sağkalımı üzerindeki etkisini değerlendirmek için yapılan çalışmalarda, sağlıklı kontroller ve MS hastalarının periferik kanlarında, monositler ve T lenfositlerdeki mRNA düzeyleri ve yine MS hastalarının BOS'unda ve plazmasında, solubl APRIL düzeyleri ölçülmüştür. MS hastalarında transkripsiyonel düzeyde APRIL'ın disregülasyonu olduğu; monosit ve T lenfositlerde sağlıklı kontrollere göre daha yüksek mRNA olduğu tesbit edilmiştir (21).

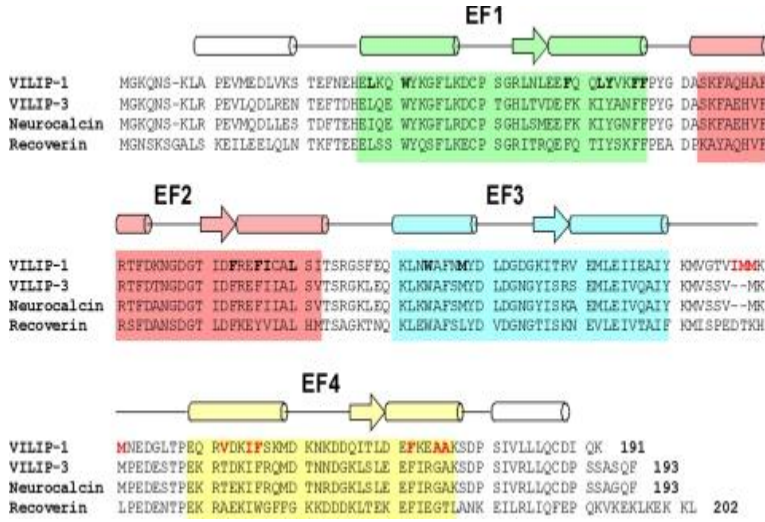
2.3. VISININ-LIKE PROTEIN-1 (VSNL1)

VSNL1, kalsiyum sensör protein ailesinin bir alt üyesidir (23, 117). Kalsiyuma bağlanır. İntraselüler kalsiyum düzeylerine cevap olarak, Adenilil siklaz enziminin aktivitesini düzenler. Bu aile 5 gruptan oluşur. VSNL-1, VSNL-2 ve VSNL-3 ile beraber 3. grupta yer alır (24).

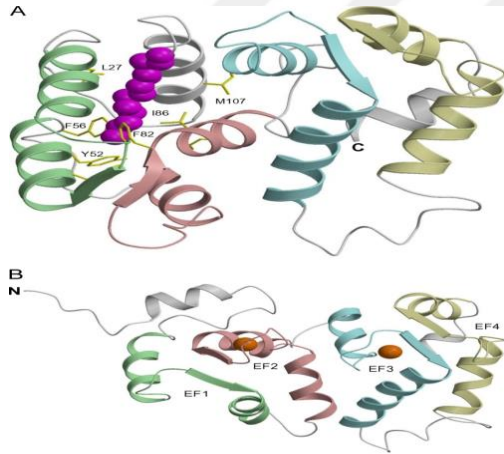
VSNL1 geni, 2. kromozomun kısa kolunda (2p24.3) yer alır (118, 119). VSNL1, 191 amino asitlik bir propeptid olarak sentezlenir. Sonrasında, ilk amino asit olan metiyonin uzaklaştırılır ve 2. pozisyonda glisin üzerinden, miristoil grubu eklenir (24). Bu post-translasyonel modifikasyon işleminden sonra matür hale gelir. Molekül ağırlığı 22,142 daltondur (118).

VSNL1 serebellar golgi, basket, granül, stellat ve dentat nükleus nöronlarında eksprese edilir. Ayrıca kortikal piramidal hücreler, internöronlar, septal nöronlar, subtalamik ve hipokampal nöronlarda da eksprese edildiği tespit edilmiştir (25). Tüm SSS bölgelerinde bulunur ve beyin hücrelerinin tahrip olmasından sonra BOS'a nüfuz eder. Ancak VSNL1 protein konsantrasyonu, henüz kanda ve BOS'ta yeterince tespit edilememiştir (120).

VSNL1'de 4 tane E ve F helix el motifi (EF-Hand) vardır. Motif 2, 3 ve 4 fonksiyoneldir. Motif 1 nonfonksiyoneldir (26). Çünkü kalsiyumun bağlanabilmesi için yan zincirinde gerekli olan 2 tane oksijen atomu yer almamaktadır. EF-el motifi, intraselüler proteinlerin çoğunda vardır ve iyi korunur (24).



Şekil 7. Human VSNL1 (VILIP-1)'in diğer Nöronal kalsiyum sensör (NCS) proteinleriyle olan amino asit dizisi ilişkisi. İkincil yapı elemanları (heliksler ve iplikçikler), EF el motifleri (EF1, yeşil; EF2, pembe; EF3, turkuaz ve EF4, sarı) ve dimerizasyon bölgesi rezidüleri (kırmızı harfler), recoverin'in amino asit dizisi üzerine eşlenmiştir. Miristoil grubu ile etkileşime giren rezidüler kalın harflerle gösterilmiştir (23).



Şekil 8. Homoloji modeliyle oluşturulmuş VSNL1'in üç boyutlu yapısı. Şerit diyagramları, Ca^{2+} içermeyen ana zincir yapıları (A) ve Ca^{2+} bağlı (B) VSNL1'in morumsu renkte vurgulanmış N-terminal miristoil grubunu göstermektedir. İkincil yapı unsurları (heliksler ve iplikler) ve EF-el motifleri, Şekil 7'deki gibi aynı renklerle çizilmiştir (EF1, yeşil; EF2, pembe; EF3, turkuaz; and EF4, sarı). Ca^{2+} bağlı VSNL1'in (B) yapısı, tüm N-alanının (EF1 ve EF2) C- alanına (EF3 ve EF4) göre $\sim 45^\circ$ döndürülmüş olduğunu ve N-terminal miristoili ortaya çıkarmasını kolaylaştırdığını göstermektedir (23).

EF-el motifinde Ca^{2+} iyonları pentagonal-bipiramidal konfigürasyonunda koordine edilir. Ca^{2+} iyonları X,Y,Z pozisyonlarındaki yan zincir rezidülerin oksijen atomlarıyla, -Y pozisyonundaki omurga karboniliyle, -X pozisyonundaki rezidüdeki bir su molekülüyle ve -Z pozisyonundaki asidik bir yan zincir ile koordine edilir (24).

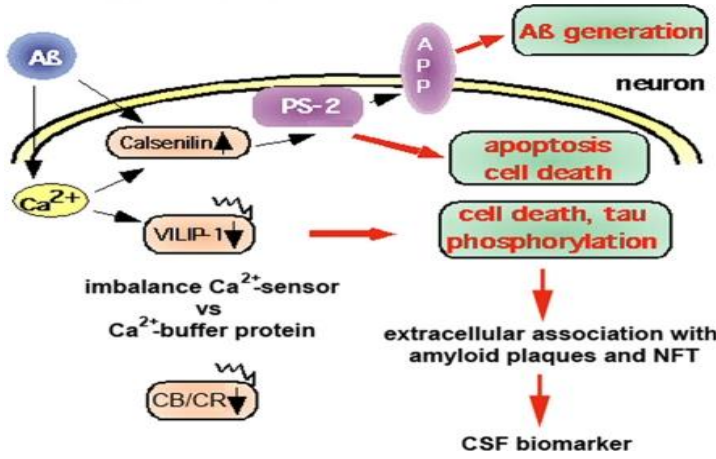
VSNL1, polipeptid zinciri üzerinde ikinci pozisyonda yer alan glisin rezidüsü üzerinden miristoillenmiştir. Bu rezidünün miristoillenmesi zarların hedeflenmesini kolaylaştırır. EF-el motifi 2, 3 ve 4'ün Ca^{2+} bağlamasıyla VSNL1, konformasyonel değişikliğe uğrar. Bu değişikliğe kalsiyum-miristoil anahtarı denir ve bu sayede VSNL1, intraselüler kısımdan membranın iç kısımlarına bağlanır. Kalsiyumun hücresel düzeydeki değişikliğine cevap olarak, Adenilil siklaz enziminin aktivitesini düzenler. Aynı zamanda intraselüler Ca^{2+} düzeyleri düşüşünü algıladığında, hücre içine Ca^{2+} girişini artırır. Yine aynı enzim üzerinden, direkt ya da indirekt olarak intraselüler sinyalleri düzenler (118).

VSNL1, Protein kinaz A indüksiyonu yoluyla cAMP düzeylerini artırır. Mahloogi ve ark. tarafından 2003 yılında yapılan bir çalışmada, ileri dereceli küçük hücreli akciğer kanserinde, VSNL1 ekspresyonunun kaybolduğu bildirildi. Farelerde yapılan bir çalışmada, VSNL1'in, Skuamöz hücreli karsinom (SCC)'de hücre adezyonunu ve migrasyon/invazyonunu, fibronektin reseptör ekspresyonunun downregülasyonu yoluyla azalttığı vurgulanmıştır. Yine Mahloogi ve ark. tarafından 2003 yılında yapılan başka bir çalışmada, VSNL1'in cAMP ilişkili bir yolak üzerinden fare SCC'de hücre proliferasyonunu ve tümör hücresi invazyonunu azalttığı vurgulanmıştır (121).

VSNL1, kalsiyuma bağlı nöronal hasar ile ilişkilidir. Değişmiş Ca^{2+} dengesinin oluşturmuş olduğu patolojik mekanizmalara katılır, bu da nöronal kayba yol açar. Ca^{2+} ilişkili nörotoksisite ve AH'nin patogenezinde rol oynar. AH'de, VSNL1 içeren nöronlarda hasar gözlemlenmiş ve bu hastaların BOS'unda, yüksek VSNL1 düzeyleri tespit edilmiştir (26, 27). AH'de biriken amiloid β , Ca^{2+} dengesini bozar. Kalsenilin up-regüle edilirken, VSNL1 down-regüle edilir. Buna ek olarak, nöroprotektif kalsiyum tampon proteinleri olan kalretinin ve kalbindin-D28K AH'de downregülasyona uğrar. Amiloid β , iç depolardan kalsiyum salınmasını ve eksternal kalsiyum akışını arttırdığı için, kalsiyum sensörü ve tampon protein oranının bu dengesizliği, nöronları amiloid β ile indüklenen kalsiyum aracılı nörotoksisiteye karşı daha savunmasız hale getirir (122). Nöronlarda kalsiyumun aşırı yüklenmesi, SSS'de çeşitli nekrotik ve apoptotik yolların aktivasyonuna neden olabilir (123). AH'de hem plazmada hem de BOS'ta artmış VSNL1 düzeylerinin olduğu tespit edilmiştir (124). BOS'ta artan VSNL1 seviyeleri amiloid β ,

tau, ApoE4 seviyeleri ile korelasyon gösterir. Son zamanlarda VSNL1, BOS biyomarkeri ve AH'de bilişsel düşüş için prognostik bir belirteç olarak değerlendirildi. Mevcut bir hipoteze göre AH'de visinin benzeri proteinlerin azalmış ekspresyonu, VSNL1'i eksprese eden nöronların ölümüne yol açar. Artmış BOS VSNL1 seviyelerinin ise bu hücrelerin ölümünden kaynaklandığı vurgulanmıştır (26).

Koreli popülasyonda yapılan çalışmalarda, VSNL1 geninin yer aldığı kromozom 2p24.3'ün şizofreni ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (119). Kromozom 2p24.3 bölgesindeki Sitozin/Timin (C/T) ve Adenin/Guanin (A/G) polimorfizmini kodlayan VSNL1 geninin 5'ucundaki 2 intergenik tekli nükleotit polimorfizmi (rs394874, rs424827) ve diğer tüm intragenik tekli nükleotit polimorfizmleri şizofreni ile ilişkili bulunmuştur (119).



Şekil 9. AH'de Ca²⁺ bağlayıcı proteinlerin nöroprotektif ve nörotoksik rolü. Amiloid β birikimleri Ca²⁺ dengesini bozarak, kalsenilin ve VSNL1 gibi NCS proteinlerinin aktivasyonuna ve patolojik ekspresyonuna neden olur. AH'de upregüle edilen kalsenilin, presenilin-2 (PS2)'ye bağımlı bir şekilde apoptotik hücre ölümünü teşvik eder, ancak PC12 feokromositoma hücrelerinde hücrelerinde nöroprotektif olduğu bulunmuştur. Aksine VSNL1 seviyeleri, AH'de down-regüle edilmiştir. VSNL1'in aşırı ekspresyonu, Ca²⁺ tampon proteini kalbindin-D28K'nin ekspresyonuyla zayıflatılmış olan PC12 nöronlarında tau fosforilasyonuna ve hücre ölümüne yol açar. Böylece, AH beyinlerinde Ca²⁺ sensör (kalsenilin, VSNL1) ile Ca²⁺ tampon proteinlerinin (CB/CR: kalbindin-D28K, kalretinin) oranındaki bir dengesizlik, selektif duyarlılık kaybına yol açar ve bu da amiloid plaklar ve nörofibriller yumrular ile ilişkili olan hücre dışı VSNL'lerin ortaya çıkmasına neden olur (26).

Farelerde yapılan çalışmalarda, pankreas β hücrelerinde de VSNL1 tespit edilmiştir. VSNL1'in cAMP düzeylerini artırarak, glukoz ile stimüle edilmiş insülin düzeylerini artırdığı, ancak bazal insülin düzeylerine etkisinin olmadığı saptanmıştır (125).

2.4. RECEPTOR FOR ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS (RAGE)

İleri glikasyon son ürünleri için reseptör anlamında olan RAGE, immünoglobülin süper ailesinin multiligand reseptörüdür (28-30).

RAGE geni, kromozom 6p21.3 üzerinde, majör histokompatibilite kompleksindeki sınıf II ve sınıf III genleri arasında; lenfotoksin, TNF ve homeobox geni HOX12 genleri çevresinde bulunur (29, 126, 127). Bu gen (~1.4 kb), yaklaşık 55 kDa'lık bir moleküler kütleyle sahip, 404 amino asitlik bir proteini kodlar (127, 128). RAGE, 1 "V" tipi immünoglobülin benzeri alanın öncülüğünde 2 "C" tipi alanın olduğu, 332 aminoasitlik bir ekstraselüler komponente ve tekli bir transmembran zincirini (18-20 amino asit) takiben, yüksek şarjlı 43 amino asitlik bir sitozolik kuyruğa sahiptir. N-terminusundaki V alanı, ligand bağlamada önemlidir ve sitozolik kuyruk ise RAGE ile hücre içi sinyalizasyonu indüklemeye kritik role sahiptir (29). RAGE geni bölgesinde, 50'den fazla polimorfizm tespit edilmiştir. Bunlardan bir glisin (G) ile serin (S) yer değişikliğini temsil eden RAGE Gly82Ser polimorfizmi (rs2070600), AGE-RAGE etkileşimini etkileyebilecek N-bağlantılı glikasyon bölgesinde (konum 82) lokalizasyonu nedeniyle ilgi çekicidir. İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan bazı çalışmalar, RAGE Gly82Ser polimorfizminin ateroskleroz patogenezindeki potansiyel rolü ile ilgili çelişkili sonuçlar vermiştir, ancak birçok çalışma, Gly82Ser polimorfizminin koroner arter hastalığı gelişimi için olası bir risk faktörü olduğunu göstermiştir (126).

RAGE kalp, beyin, karaciğer ve böbrek gibi çoğu organda ve damarlarda eksprese edilir. (126). RAGE ekspresyonu normal şartlar altında minimaldir, fakat hücresel stres sırasında artmaktadır (129). RAGE, ateroskleroz ve immün-inflamatuar yanıtta rol alan çoğu hücre tipi üzerinde eksprese olur. Çoğu çalışma, monosit, makrofaj ve endotel hücreleri gibi hücreler üzerindeki ligand-RAGE etkileşiminin, proinflamatuvar ve protrombotik moleküllerin upregülasyonuna ve hücresel migrasyona aracılık ettiğini göstermiştir (28).

İleri glikasyon son ürünleri (AGE'ler) proteinler, nükleik asitler ve lipidlerin nonenzimatik glikasyon ve oksidasyonu sonucu oluşan RAGE ligandlarıdır (130). AGE'ler, diyabetik vasküler yapılarda yaygındır ve ateroskleroz gelişimine katkıda bulunur. Birçok farklı hücre tipinde AGE'lerin varlığı ve birikimi, hücre dışı ve hücre içi yapıyı ve hücre fonksiyonunu

etkiler. RAGE ile birlikte ekstraselüler matriksin bazal membranlarında çapraz bağlar oluşturarak, mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar oluşturur. AGE'ler tarafından RAGE'nin aktivasyonu, transkripsiyon faktörü olan NF-κB ve hedef genlerin upregülasyonuna neden olur. AGE-RAGE etkileşimi, makromoleküllere endotelial geçirgenliğini artırır (29).

AGE'lerin ekstraselüler fonksiyonları: Diyabetik komplikasyonlara katkıda bulunduğu genel mekanizmalar şunları içerir: 1- Ekstraselüler matriksin (ECM) temel zarındaki anahtar moleküller arasında çapraz bağların oluşturulması, hücresel yapının kalıcı olarak değiştirilmesi. 2- Hücre yüzeylerinde AGE'lerin RAGE ile etkileşimi neticesinde hücresel işlevin değiştirilmesi (29).

AGE'lerin intraselüler fonksiyonları: AGE'ler ayrıca hücre içi proteinler üzerinde oluşur. Hücre içi AGE'ler, vasküler dengede kritik rolü olan hücrenin özelliklerini değiştirir. AGE oluşumu, hiperglisemik bir ortamda 1 hafta sonra endotel hücrelerinde belirgin şekilde artar. Hücre içinde temel fibroblast büyüme faktörü glikatlenen bir proteindir. Bu proteinin AGE modifikasyonu, endotel hücresi sitozolünün mitojenik aktivitesini %70 oranında azaltır (29).

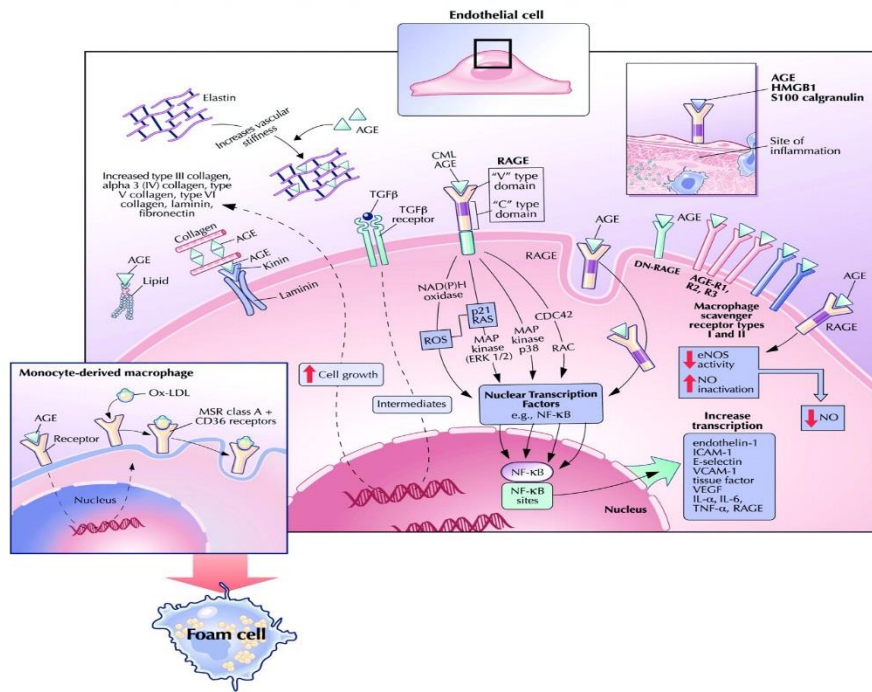
AGE'ler, özellikle hiperglisemide üretilmesine rağmen; böbrek yetmezliği, oksidatif stres, inflamasyon ve yaşlılık gibi normoglisemik gibi durumlarda da artabilir. AGE'lere ek olarak, reseptörün doğal ligandları olan S100/calgranulin familyasının ve amfoterinin (veya yüksek mobilite grubu kutu-1 [HMGB1]) belirli üyeleri, RAGE ile etkileşime girer. İlginçtir, HMGB1 başlangıçta bir hücre içi (nükleer) protein olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte, uyarılmış hücreler tarafından salınması, bu molekül için iltihaplanma ve hücre stresinde yeni rolleri olduğunu ortaya koymuştur. İn vivo çalışmalar, inflamasyonda HMGB1 ve RAGE'nin kritik rol aldığını göstermiştir. Örneğin ligand-RAGE etkileşiminin ya da HMGB1'in (HMGB1'e karşı antikolar kullanarak) bloke edilmesi, inflamatuvar artrit olan kemirgenlerde inflamasyonu suprese ettiği tespit edilmiştir. HMGB1'in kemirgenlerde eklem içine enjeksiyonu, artrit oluşumunu tetiklemiştir (28).

Son yıllardaki araştırmalar, MS hastalarının plazmasında ve beyinde AGE'lerin arttığını ortaya koymuştur. Bu nedenle, AGE'lerin MS'deki enflamasyon durumuna katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (4).

Reseptörün karmaşık yapısı ve çok sayıda kesişen yoldan dolayı, AGE-RAGE sinyal mekanizması halen iyi anlaşılammıştır (131). Birçok sinyal yolu, RAGE ile aktive edilir. Ligand-RAGE etkileşimi p44/42, p38, c-Jun N-terminal kinaz (JNK) MAPK gibi mitojenle

aktive protein kinazların aktivasyonunu uyarır. Jak/STAT yollarının aktivasyonu da RAGE ile bağlantılı bulunmuştur. RAGE, ligandı ile etkileştiğinde sinyal ileti yollarını aktive eder ve böylece hem hücre stresine hem de inflamasyona aracılık eder (28). Ligandın RAGE'ye bağlanması, hücre içi oksidatif stresi artırır ve IL-1 α , IL-6 ve TNF α gibi pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini arttıran NF- κ B'nin aktivasyonuna yol açar (4). NF- κ B alanları, RAGE ilişkili inflammatuar cevapta RAGE'nin hücrel ekspresyonunu kontrol eder (29). RAGE ve AGE'lerin etkileşimi, yine NF- κ B aktivasyonu yoluyla E-selektin, İnterselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve Vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırır. Böylece, normalde antikoagülan etki gösteren vasküler endotel, prokoagülan özellik kazanır (127). RAGE'nin proliferasyon, apoptozis, anjiyogenez, migrasyon ve fibrozis gibi çeşitli hücrel işlevleri vardır (129).

Oksidatif stres ve inflamasyonda hem RAGE hem de ligandlarında artış olması, ateroskleroz patogeneze katkıda bulunduğunu gösterir. Çünkü aterosklerozda, vasküler inflamasyon önemli bir faktördür. Farelerde yapılan çalışmalarda, RAGE antagonizmasının ve genetik bozulmasının vasküler inflamasyonu ve aterosklerozu azalttığı gözlemlenmiştir. Bu bulgular, RAGE'nin inflamasyon ve aterosklerozda terapötik müdahale için mantıklı bir hedef olabileceğini gösterir (28, 30).



Şekil 10. AGE'lerin hücre dışı ve hücre içi etkileri. ECM'de AGE'ler, lipidler, kollajen, laminin, elastin ve vitronektin gibi çeşitli farklı moleküller üzerinde oluşur. ECM molekülleri üzerinde

AGE'lerin oluşması, matriksin yapısını değiştirir ve sertliği artırır. AGE'ler ayrıca, hücre büyümesini uyarmak için TGF- β reseptörünü aktive ederek hücre dışı matriks üretimini artırır. Endotel hücresi yüzeyinde RAGE'ye bağlanan AGE'ler, NAD (P) H oksidaz'ı uyaran ve ROS, p21 RAS ve MAPK'leri artıran bir sinyalleme kaskadına yol açar. Buna ek olarak, ligand-RAGE etkileşimi ayrıca p38 MAPK ve Rac/Cdc yoluyla sinyalleme uyarabilir. RAGE sinyalleşiminin ana hedefi NF- $\kappa\beta$ 'dir. NF- $\kappa\beta$, çekirdeğe transloke olur ve burada endotelin-1, ICAM-1, E-selektin ve doku faktörü gibi bir dizi farklı proteinin transkripsiyonunu artırır. AGE ve RAGE için ligandlar, örneğin HMGB1 ve S100 calgranulinler, inflamatuvar yolları tetikler. AGE, nitrik oksit sentaz aktivitesini azaltarak ya da nitrik oksit söndürmesi yaparak, nitrik oksitin kullanılabilirliğini azaltabilir. sAGE'ler monositleri aktive eder, makrofaj skavenger reseptör (MSR) sınıf A reseptörleri ve CD36 reseptörlerinin artmış ekspresyonuna neden olur ve okside low density lipoprotein (LDL) alımını ve köpük hücre oluşumunu artırır (29).

sRAGE, splice izoformu dediğimiz kesilmiş bir RAGE mRNA'sından ekleme varyantı olarak ya da membrana bağlı tam uzunlukta RAGE'den metalloproteinazlar ile proteolitik yıkım sonucu üretilir (129). Transmembran alanından yoksundur ve plazmada sekrete edilir (132). RAGE ve çözümlü formda olan sRAGE, iltihaplanmanın karşıt oyuncularıdır. Artan monositik RAGE ekspresyonu ve azalmış plazma sRAGE seviyeleri, enfarktüs ile ilişkili kardiyojenik şokta yüksek mortaliteyle ilişkilidir (133). Tip I ve tip II diyabet hastalarında ve özellikle böbrek fonksiyonlarında bozukluk olan, özellikle son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda serum sRAGE seviyeleri yükselmiştir. AGE'lerdeki artışlar RAGE ekspresyonunu artırırken artan RAGE'lerden de sRAGE'ler oluşur (134).

Basta ve ark. sRAGE'deki azalmanın tip II diabetes mellitus (DM) ve hiperglisemi ile ilişkili olduğunu saptamıştır (135).

Ligand uyarımının etkileri sRAGE'nin upregülasyonuna aracılık etmesinden ve sRAGE'nin RAGE ile paralel olarak salınmasından dolayı sRAGE, RAGE sisteminde artmış aktiviteyi yansıtabilir. Bu özellik sRAGE'yi değerli bir biyolojik belirteç haline getirir. Cai ve ark. ile Park ve ark. AKS'li hastalarda sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında sRAGE düzeylerinin yükseldiğini bildirmiştir (129).

RAGE vasküler düz kas hücreleri, nöronlar, monositler, makrofajlar, hepatik stellat hücreler, hepatositler ve hepatom hücrelerinde eksprese edilir (129, 132, 136). T lenfositler, otoimmün diyabet patogeneğinde, yani tip I diyabette esansiyel rol oynar. Çünkü RAGE B

lenfositler, CD4+ ve CD8+ T lenfositler tarafından da eksprese edilir. RAGE'nin alloimmün cevabındaki rolünü araştırmak için, farelere sRAGE verildi ve sRAGE ile tedavi edilen farelerin greft sağ kalımı, artmış olarak bulundu (28).

Savunmasız odaklara T lenfosit migrasyonunda ve infiltrasyonunda RAGE'nin bağlantısı vardır. Bu kavramlar, deneysel otoimmün ensefalomyelitinin bir fare modelinde test edildi. Endojen TCR- α ve TCR- β zincirlerinden yoksun T hücre reseptörü (TCR)-transgenik farelerde, spontan oluşan ya da miyelin bazik protein (MBP) ile indüklenen deneysel otoimmün ensefalomyelit, sRAGE tedavisi ile suprese edildi. Bu tedavi sayesinde aynı zamanda spinal kordun inflamasyonunda azalma tespit edildi (28).

Farelerde yapılan deneylerde ligand-RAGE etkileşimini bloke etmek için anti-RAGE IgG, anti-S100A12 IgG ve sRAGE kullanıldığında, inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu, granüloma oluşumu ve ödemin azaldığı tespit edilmiştir. sRAGE, ligandları hücre dışında tuzak olarak bağlar. Yani, ligandların membrana bağlı olan RAGE'ye bağlanmasını ve AGE-RAGE sinyalizasyonunun olumsuz etkilerini önlediği düşünölmektedir (28, 132) .

RAGE, çeşitli karaciğer rahatsızlıklarının gelişmesine ve ilerlemesine yol açar. Hepatoselöler karsinomda düzeyleri yüksek bulunmuştur (129). Çoğu durumda, RAGE ifadesi diyabetik aorta, böbrek ve retina gibi hastalık durumlarında artmıştır (28).

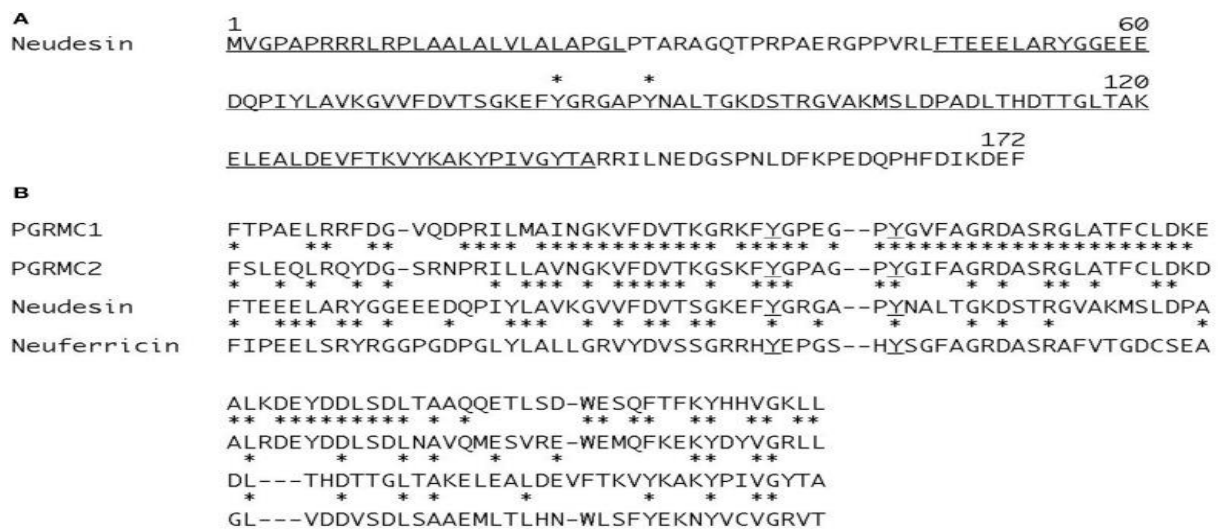
RAGE ve bunun ligandları, koroner arter hastalığının (KAH) patogeneziyle bağlantılıdır. Dolaşan sRAGE'nin, RAGE aktivitesini yansıtan ve AKS için bir biyomarker olduğu düşünölmektedir. Çünkü sRAGE seviyeleri akut iskemide yüksek bulunmuştur (129).

RAGE, MS'de rol alan çeşitli hücre tiplerinde ifade edilir. Andersson ve ark. aktif MS lezyonlarında ve bir hayvan MS modelinde; deneysel otoimmün ensefalomyelitteki SSS lezyonlarında RAGE'nin upregüle edildiğini saptadı. 2003'te Yan ve ark. EAE gelişimi ve MS'de RAGE'nin rolünü incelemişlerdir. RAGE immünreaktivitesinin MS hastalarındaki beyin örneklerinde, özellikle mononökleer fagositler ve CD4+ T hücrelerinde arttığı gösterilmiştir. Bu, EAE farelerinin spinal kord dokusunda doğrulandı. RAGE'nin MS hastalığının ilerlemesine katkıda bulunduğu deneysel kanıtlar da vardır. Yapılan çalışmalarda, hematopoitik ve endotel hücrelerinde RAGE'nin hücreye özgül aşırı ekspresyonun, kontrollerle karşılaştırıldığında EAE şiddetinde belirgin bir artışa neden olduğu saptanmıştır. Bu bulgular, immün ve endotel hücrelerindeki RAGE ekspresyonunun, nöroinflamasyonun başlamasında değil, devam ettirilmesinde rol oynadığını düşünörmektedir (4).

Yapılan immünohistolojik çalışmalarda, MS hastalarının spinal kord dokularında, sağlıklı kontrollerin spinal kord dokularına kıyasla, nöronlarda ve inflamatuvar hücrelerde artmış RAGE ekspresyonu gözlemlenmiştir. Vasküler demans ve AH'de sağlıklılara göre azalmış sRAGE düzeyleri gösterilmiştir. 776 pg/ml'nin altındaki plazma sRAGE seviyesinin, AH'li kişileri tanımlamak için güvenilir bir limit olduğu vurgulanmıştır. İnflamatuvar bir etyolojiye sahip olan RA'da da benzer sonuçlar görülmüştür. (132).

2.5. HUMAN NEUDESIN

Human neudesin, NENF ya da aday onkogen GIG47 olarak isimlendirilir (31). Nöron diferansiyasyonu ve sağkalımı ilgili bir nörotrofik faktördür (137). NENF geni, 1. kromozomun kısa kolunda (1p33) lokalizedir (138). cDNA klonunun boyutu 703bp'dir (139). Molekül ağırlığı 18,8 kDa'dır. 172 aminoasitlik bir protein olarak sekrete edilir (31, 140). İlk 31 amino asitlik kısım sinyal peptididir. 44-129 amino asitlik kısımda bir sitokrom 5 benzeri hem/steroid bağlanma bölgesi ile korunur (140). Bu bölge ile heme bağlanır ve aktivitesi için gereklidir (Kimura ve ark. 2005, 2008). NENF, G proteine bağlı reseptörler üzerinden, intraselüler sinyal yollarını aktive eder. Membran ilişkili progesteron reseptör ailesinin bir üyesidir. Diğer üyeler ise progesteron reseptör membran komponenti 1 (PGRMC1), PGRMC2 ve Neuferricin'dir (31).



Şekil 11. Human neudesin'in (A) amino asit dizisi ve insan MAPR ailesindeki (B) hem/steroid bağlayıcı alanların karşılaştırılması. (A) Altı çizgili kısımlar, ayrılmak üzere salgılanan bir

sinyal dizisini ve korunmuş hem/steroid bağlama alanını belirtmektedir. Yıldız işaretleri, heme bağlanması için gerekli olan iki korunmuş tirozin rezidülerini, yani 82 ve 88'i gösterir. Sayılar, amino asit pozisyonlarına karşılık gelir. (B) Kısa çizgiler, dizileri hizalamaya yarayan boşlukları belirtir. Yıldız işaretleri, sıralardaki özdeş amino asit kalıntılarını gösterir. Altı çizgili olanlar, MAPR ailesinde heme bağlanması için gerekli olan iki korunmuş tirozin kalıntısını göstermektedir (31).

NENF'in amino asit dizisi, omurgalılarda oldukça korunmaktadır. Nükleer manyetik rezonans analizi, NENF'in bir α -heliks/ β -iplikli yapısına sahip olduğunu ve bunun β 1- α 1- β 2- β 3- α 2- β 4- α 3- α 4- β 5- β 6 topolojide olduğunu göstermiştir. Hem/steroid bağlanma alanı α 2- β 4- α 3 topolojisinde bulunur. Hem/steroid bağlayıcı hidrofobik cep, α 2 ve α 3 heliksleri arasında görünür. Bu cepteki 82 ve 88 numaralı tirozin kalıntıları, hem bağlanması için gereklidir (31).

NENF, SSS'de bolca ifade edilir ve nörotrofik aktivitesini, MAPK ve PI3K yolları üzerinden gösterir (137). Farelerin embriyonik dönemlerinde, özellikle beyin ve spinal kordda üretilir. Postnatal durumlarda ise beyin (özellikle nöronlar), yağ doku, kalp, akciğer, iskelet kası ve böbrekte üretilir (31, 141). Beyin bölgesinin tüm alanlarındaki nöronlarında, özellikle serebral korteks, hipokampus, talamus ve hipotalamusta ifade edilir, ancak glial hücrelerde ifade edilmemektedir. Hipotalamik nükleusta bolca sentezlenen ve yiyecek alımını azaltan anoreksijenik bir faktördür (137). Farelerin beyaz yağ dokusunda bolca sentezlenir ve yağ sentezini azaltır. Dolayısıyla enerji metabolizmasında rolleri vardır. NENF verilmeyen farelerde (NENF fonksiyon yokluğu) sempatik sistem aktivitesi, enerji harcanması ve beyaz yağ dokusunda lipoliz artar. Kahverengi yağ dokusunda, yağ asidi oksidasyonu ve ısı üretimi artar. Böylece fareler, yüksek yağlı diyetin tetiklediği obeziteye karşı, dirençli hale gelirler (31, 141). Beyaz yağ dokusunda, fazla enerji trigliserid şeklinde depolanır. Kahverengi yağ dokusu enerjiyi ısı olarak dağıtır ve böylece obezite ile mücadele eder (142). NENF verilmeyen fareler ayrıca, hipokampal anksiyete devresindeki rollerini gösteren anksiyete benzeri davranış sergilerler (31). Primer kültürlenmiş astrositlerdeki mitojenik aktiviteyi değil, primer kültüre edilmiş nöronlarda önemli nörotrofik aktivite gösterir. Birçok çalışma, NENF'in nöronal gelişim ve fonksiyon için kritik bir faktör olduğunu göstermektedir (141). Serebral korteks nöronlarında apoptozisi azaltarak, nöronal sağ kalımı artırır. Aktivitesini, spesifik hücre yüzeyi reseptörüne bağlayarak gösterir. Adipositlerde ve kanser hücrelerinde olduğu gibi MAPK ve PI3K yolaklarını aktive eder (142). Beyin gelişimi sırasında rekombinant NENF, PI-3K ve PKA yolakları yoluyla nöral prekürsör hücrelerin mikrotübüle bağlı protein 2 (MAP-2) pozitif nöronlara farklılaşmasını sağlayarak nöronal sayıları doğrudan artırırken, MAPK ve

PKA yolları (PI-3K yoluyla değil) üzerinden bölünen nöral prekürsör hücrelerinin proliferasyonunu geçici olarak sağlayarak, dolaylı olarak artırır (137). Çoğu insan kanserinde, DNA hipometilasyonu ile aşırı sentezlenen veya uyarılan NENF, tümör oluşumunu ve invazyonunu uyarmaktadır (31). NENF'in, primer meme tümörlerinin yanı sıra serviks, kolon, akciğer ve cilt kanseri ile malign lenfoma ve lösemi de dahil olmak üzere birçok insan tümörlerinde aşırı derecede eksprese edildiği tespit edilmiştir (139). Fare nöroblastomunda aşırı sentez edilir. Tüm bu bulgular neticesinde, NENF'in kanser ve obezite tedavisi için yeni bir hedef olabileceği düşünülmektedir. (31).

Yapılan bir çalışmada, plazmada NENF yeterince tespit edilememiş olup, bunun periferik dokularda lokal bir sinyal molekülü olduğu düşünülmüştür. NENF'in henüz belirlenmemiş spesifik bir reseptörü aracılığıyla hedef hücreler üzerinde etki ettiği varsayılmaktadır (142).

2.6. AMINOACYLASE-1

ACY1 (N-acyl-L-amino-acid amidohydrolase, EC 3.5.1.14), çoğu dokuda sentezlenen, açillenmiş L-amino asitlerin hidrolizini katalizleyip onları L-amino asitlerine ve bir açil grubuna dönüştüren, sitozolik, +2 değerlikli çinko içeren, homodimerik bir metalloenzimdir (32, 143). Aynı zamanda N-asetil amino asitleri, serbest amino asit ve asetik asite hidroliz eden, bir çinko-bağlama enzimidir (35, 144). ACY1'in tercih ettiği substratlar, kısa zincirli açil kısmı olan alifatik amino asitler, özellikle de N-asetil-metiyonindir. Bununla birlikte ACY1, ters yönlü reaksiyon ile asetillenmiş amino asitlerin sentezini de katalize edebilir (35).

3. kromozomun kısa kolunda yer alan (3p21.1) ACY1 geni tarafından kodlanır ve bu gen 15 ekson içerir (Naylor ve ark. 1979, 1982; Miller ve ark. 1990; Cook ve ark. 1993) (32, 35). ACY1'in intron-ekson yapısı, Ex1_f, ACCTCGCTGGACCCTAAGTC; Ex1_r, AGCCCCAGTCCCTCTATCC; Ex2_f, CACGGTATCCTACCCCTGTG; Ex2_r, TACTTGGGGAATGGCTGGAG; Ex3+4_f, CTGGGTATGCTCCACTCTCC; Ex3+4_r, GGACCATGAGCAACTTGAGG; Ex5_f, ACCACTCCACCTGTCCTCC; Ex5_r, TCCTTGGCCTTGAGTTTCTC; Ex6-8_f, GGGTAAAGTCCAGGACACAGG; Ex6-8_r, CTCAACTTTGCTGTGCAACC; Ex9+10_f, AGAGGAGCCTGGAATGAGG; Ex9+10_r, GCGGCAGCAACAGATAAAAG; Ex11+12_f, GGCGGTACCACAGAGGATAG; Ex11+12_r, AATGCCAGACATATGCAGAC; Ex13+14_f, TGTACTAGGCACAGCCCCTC; Ex13+14_r, AAGAGCCGTTAGGGAAAAGC; Ex15_f,

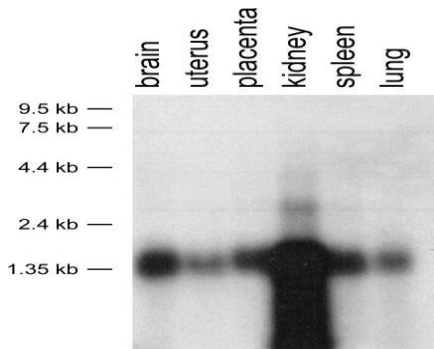
ATATAGTGCCTGGGCAGTGG; Ex15_r, GGCTGGATGGTACTGAATGG şeklindedir. Ekson 1, 117 bp; ekson 2, 373 bp; ekson 3+4, 437 bp; ekson 5, 312 bp; ekson 6–8, 603 bp; ekson 9+10, 401 bp; ekson 11+12, 494 bp; ekson 13+14, 458 bp; and ekson 15, 541 bp'ye sahiptir (35).

ACY 1, cDNA'sında 1438bp vardır. ACY1, 3p21.1 içerisindeki 2,5 megabaz fiziksel haritanın sentromerik ucunda lokalizedir (32). 45,882 Da'lık tahmin edilen molekül kütlesi olan, 408 amino asitlik bir protein olarak sentezlendikten sonra, post-translasyonel modifikasyon işleminde başlangıç metiyonini uzaklaştırılır ve 407 amino asitlik bir zincir uzunluğuna sahip olur (32).

Küçük hücreli akciğer kanseri ve renal hücreli karsinomda, bu 3p21 bölgesinin homozigositesi azalmıştır ve enzimin ekspresyonu azalmıştır (32, 33). Bu bölgede tümör süpresör genlerin de olabileceği düşünülüyor. Küçük hücreli akciğer kanserinde bu kromozal bölgede delesyon saptanmıştır (32).

ACY1 genindeki mutasyonlara bağlı olarak oluşan ACY1 eksikliği, otozomal resesif kalıtımı izler ve idrarda N-asetil amino asitlerin (metiyonin, glutamik asit, lösin, glisin, valin ve izolösin türevleri) birikimi ile karakterizedir. Doğuştan gelen bir metabolizma hastalığıdır. Etkilenen bireylerde febril nöbetler, vermiş atrofi ile psikomotor gelişimin gecikmesi, siringomyeli, belirgin kas hipotoni ve orta düzeyde zeka geriliği gibi nörolojik bulgular bildirilmiştir (35, 144).

ACY1, en çok böbrek kortikal alandaki tübül epitelinde sentezlenir (36, 37). SSS'de de güçlü bir şekilde eksprese edilir. SSS işlevinde veya gelişiminde rolü düşünülebilir, ancak henüz gösterilememiştir (35). Daha az olarak, plsentta, dalakta, uterus ve akciğerde sentez edilir (35).



Şekil 12. İnsan yetişkin dokusunda, northern blot yöntemiyle ACY1 geninin gösterilmesi. ACY1 probe, insan cDNA'sının tahmin edilen boyutuna tekabül eden ~1,6 kb'lik tek bir bant

tespit eder. Ekspresyon böbrekte en yüksek, beyinde güçlü, plasenta ve dalakta zayıftır. ACY1 mRNA'sı uterus ve akciğerde de eksprese edilir. RNA boyutu işaretleyicileri sol tarafta gösterilmiştir (35).

Serum ACY1, renal transplantasyon sonrası gecikmiş greft fonksiyonlu hastalarda uzun vadeli sonuç için potansiyel prognostik yarar sağlayan yeni bir biyo belirteçtir. Gecikmiş greft fonksiyonlu hastalarda düzeyi yükselir (145).

ACY1, birçok kanser çeşidinin proliferasyonunu regüle etmede önemlidir. Kolorektal tümör dokusunda, ACY1 mRNA'sının artmış ekspresyonu ve artmış ACY1 protein seviyeleri tespit edilmiştir. Bu ACY1 mRNA ekspresyonunun, tümör evresi ile aralarında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. İn vitro olarak ACY1 ekspresyonunun inhibe edilmesi, kolorektal kanser hücre çoğalmasını azalttığı ve apoptozis hızını arttırdığı tespit edilmiştir (33, 34).

3. MATERYAL-METOD

Çalışmamıza Haziran-2016 ve Mayıs-2017 tarihleri arasında MSKÜ Araştırma hastanesinin Nöroloji polikliniğine başvuran, MS tanısı almış, karaciğer hastalığı, böbrek hastalığı ve başka bir inflamatuvar hastalığa sahip olmayan 18-65 yaş arasında, 15'i aktif dönemde ve 17'si inaktif dönemde olan toplam 32 hasta ve yine aynı yaş grubu aralığında sağlıklı gönüllülerden oluşan 30 kişi kontrol grubu olarak dahil edildi. Nörolog tarafından hastalar muayene edilip EDSS skorları belirlendi. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubundaki her birey, çalışma hakkında bilgilendirilerek, onlardan Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam formu alındı. Çalışmaya alınan hastalar ile ilgili gerekli bilgiler, hasta bilgi formuna kaydedildi. Hastalardan yaklaşık 12 saat açlıktan sonra biyokimya tüpüne (kırmızı kapaklı) venöz kan alındı. Alınan numuneler oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra, 4000xg'de 5 dakika santrifüj edilip elde edilen serumlar endorflara alındı ve çalışma yapılana kadar -80°C'de saklandı. 32 hasta sayısına ve 30 kontrol sayısına ulaşıldığında serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 düzeylerini çalışmak için -80°C'de saklanan örnekler, endorflardan yeterli miktarda çıkarılarak oda sıcaklığında eritildi. Eritilen örnekler, Molecular Devices SpectraMax i3 Multi-Mode, Microplate Reader, SER 35 370-1448 seri numaralı ve Avusturya menşeli cihaz kullanılarak ELISA yöntemiyle ölçüldü. Kit prospektüsüne göre çalışma yapıldı. Çalışılan serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 düzeyleri için birimler ng/ml olarak hesaplandı. Kitler, çalışılmadan önce -20°C'de saklandı.

Serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 düzeyleri, biyotinli çift antikor sandwich teknolojisine dayanan ELISA yöntemiyle ölçüldü. Bu tekniğin ilk basamağında, ölçülecek parametreye spesifik monoklonal antikorlar, solid faz olarak polistren mikrotirasyon kuyucuklarında immobilize durumdadır. İkinci basamakta, immobilize antikorlarla serum örneğinde ölçülmek istenen antijen bağlanır; antikor-antijen kompleksi oluşur. Üçüncü basamakta, biyotin ve streptavidin-HRP (horseradish peroksidaz enzimi) ile işaretlenmiş ikinci bir antikor, solid fazdaki immobilize antikora bağlanmış olan antijene (antikor-antijen kompleksine) bağlanarak sandwich formu (antikor-antijen-antikor) oluşturur. Yıkama ile antikor-antijen-antikor kompleksi dışındaki maddeler ortamdan uzaklaştırılır. Dördüncü basamakta, işaretlenmiş ikinci antikorun işareti enzim olduğu için uygun kofaktörle birlikte substrat eklenir (bizim çalışmamızda substrat olarak kromojen A ve kromojen B kullanıldı). Enzim substratı ürüne dönüştürür. Bu sırada oluşan rengin şiddeti spektrofotometrik yöntemle absorbans üzerinden ölçülür. Oluşan rengin şiddeti, serumdaki antijen konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Serum **APRIL** seviyelerini ölçmek için, katalog no: YLA0971HU olan Biont marka APRIL ELISA kiti kullanıldı. Ölçüm için ilk olarak standart çalışma solüsyonları hazırlandı. Ependorf tüpleri, 1'den 5'e kadar numaralandırıldı. İlk olarak 5 numaralı tüpe 120µl (mikrolitre) orijinal standart (2400ng/L), mikropipet vasıtasıyla eklendi. Üstüne 120µl standart dilüent eklenip vortex ile karıştırıldı. Mevcut karışımdan 120µl alınıp 4 numaralı tüpe aktarıldı ve üzerine 120µl standart dilüent eklendi. Vortex ile karıştırıldıktan sonra 4 numaralı tüpten 120µl alınıp 3 nolu tüpe aktarıldı ve üzerine 120µl dilüent eklendi. Karışımdan, vortex işleminden sonra 120µl alınıp 2 nolu tüpe aktarıldı. Bu tüpe aynı miktar dilüent eklenip vortex ile karıştırıldı. Sonra 2 nolu tüpten 120µl alınıp 1 nolu tüpe aktarıldı ve üzerine aynı miktar dilüent eklendi ve vortex ile karıştırıldı. Neticede 1'den 5'e kadar olan tüplerde sırasıyla; 75, 150, 300, 600 ve 1200ng/L konsantrasyonlarında çalışma solüsyonları hazırlandı. Her bir standart solüsyon 2'şer defa (50'şer µl) çalışıldı. Hasta grubundan 40µl, kontrol grubundan 40µl ve anti-APRIL antikorlarından 10µl sırasıyla pipetlendi. Blank kuyucuğu dışındaki mevcut her kuyucuğa streptavidin-HRP'den 50µl eklendi. Ardından plaka membranıyla kapatılıp 60 dk süre ile 37°C'de etüvde inkübe edildi. O sırada 10 ml'lik yıkama konsantratu, 30 kat distile su ile dilüe edilerek wash buffer hazırlandı. İnkübasyondan sonra plaka etüvden çıkarıldı, ters edilerek akıtıldı ve ardından 250µl yıkama solüsyonu blank haricindeki tüm kuyucuklara eklenip döküldü. Bu işlem 4 kez tekrarlandı. Kromojen A ve ardından ışığa hassas olan kromojen B solüsyonlarından 50µl, tüm kuyucuklara pipetlendi. 10dk boyunca 37°C'lik sıcaklıkta bekletildikten sonra reaksiyonları durdurmak için 50µl stop solüsyonu, plakadaki kuyucuklara eklendi. Hazır durumda olan plaka, ölçüm yapacağımız cihaza yerleştirildi. Ölçüm için cihaz aplikasyonu yapıldı. Hasta, kontrol grubu, blank ve standart solüsyon yerleri cihaz üzerinde belirlendi. Ölçeceğimiz APRIL değerleri için uygun birim ayarı yapıldı. Standart solüsyon konsantrasyon verileri ilgili alana girildi. Spektrofotomerik metotla absorbans ve optik dansite (OD) değerleri, önceden ayarladığımız 450nm'de ölçüldü. Serum APRIL değerleri, OD değerleri ve standart eğri ile karşılaştırılarak hesaplandı. Bilgisayar monitöründen sonuçlar kaydedildi.

Serum **VSNL1** düzeylerini ölçmek için, Biont marka ve katalog no: YLA3724HU olan VSNL1 ELISA kiti kullanıldı. En başta standart çalışma solüsyonları (orijinal standart konsantrasyonu 32ng/ml idi ve 1'den 5'e kadar olan tüplerde sırasıyla; 1, 2, 4, 8 ve 16ng/ml konsantrasyonlarında) hazırlandı. Elde edilen standart solüsyonlardan 50'şer µl olacak şekilde her biri için 2 düzey çalışıldı. Önce kontrol grubundan ve sonrasında hasta grubundan 40µl'lik numuneler ve ardından 10µl anti-VSNL1 antikorları ilgili kuyucuklara eklendi. Plakadaki

bütün kuyucuklara (blank kuyucuğu hariç) 50µl streptavidin-HRP eklendi. 1 saatlik (37°C’de) inkübasyondan sonra, aynı şekilde hazırlanan wash buffer ile blank haricindeki kuyucuklar 4 defa yıkandı. Sonra sırasıyla kromojen A ve kromojen B solüsyonlarından 50µl, bütün kuyucuklara eklendi. 10dk boyunca 37°C’de inkübe edildi. Sonrasında stop solüsyonundan 50µl, reaksiyonu sonlandırmak için plakadaki tüm kuyucuklara pipetlendi. Hazırlanan preparat cihaza verildi. Serum VSNL1 seviyelerini ölçmek için önce cihaz aplikasyonu yapıldı. Cihazda, plakalardaki lokalizasyon ayarları blank, standart solüsyon, hasta ve kontrol grubu numuneleri için yapıldı. Standart solüsyonların konsantrasyonları için veri girişi yapıldı. Çalışacağımız VSNL1’in birimi (ng/ml) ve dalga boyu (450nm) girildi. Spektrofotometrik yöntemle 450nm’de OD ve absorbans ölçüldü. Serum VSNL1 düzeyleri, OD değerleri ve bilinen standart solüsyon konsantrasyonları vasıtasıyla oluşturulan standart eğri ile kıyaslanarak hesaplamaları yapıldı. Sonuçlar bilgisayar ekranından çıkartılıp kaydedildi.

Serum **sRAGE** düzeylerini ölçmek için, katalog no: YLA1499HU olan Biont marka sRAGE ELISA kiti kullanıldı. İlk etapta standart çalışma solüsyonları (orijinal standart konsantrasyonu 24ng/ml idi ve 1’den 5’e kadar olan tüplerde sırasıyla; 0.75, 1.5, 3, 6 ve 12ng/ml konsantrasyonlarında) hazırlandı. Hazırlanan standart solüsyonlardan 50µl’lik hacimler, her birinin 2 defa çalışılması için ilgili kuyucuklarına eklendi. Sonra her bir kontrol grubu ve hasta kuyucuğuna 40µl numune ve ardından 10µl anti-sRAGE antikorları pipetlendi. 50µl streptavidin-HRP, blank kuyucuğu dışındaki tüm kuyucuklara eklendi. 37°C’de 1 saat boyunca inkübasyona tabi tutuldu. Wash buffer, distile su ile 10 ml’lik yıkama konsantratu 30 kat dilüe edilerek hazırlandı. İnkübasyondan sonra 4 kez 250µl wash buffer ile blank kuyucuğu haricindeki tüm kuyucuklar yıkandı. Önce kromojen A ve sonrasında kromojen B solüsyonundan 50µl her kuyucuğa eklendi. 37°C’de 10dk süreyle inkübasyonun ardından reaksiyonu sonlandırmak için 50µl’lik stop solüsyonları, her bir kuyucuğa eklendi. Hazır hale gelen plaka cihaza konuldu. Serum sRAGE değerlerini ölçmek için cihaz aplikasyonu yapıldı. Cihazda, plakalardaki lokalizasyon ayarları blank, standart solüsyon, hasta ve kontrol grubu numuneleri için yapıldı. Standart solüsyonlar için önceden bilinen konsantrasyonlar girildi. Çalışacağımız sRAGE için uygun birim (ng/ml) ve dalga boyu seçildi. Spektrofotometrik yöntemle 450nm dalga boyunda absorbans ve OD ölçüldü. Serum sRAGE değerleri, OD değerleri ve önceden bilinen standart solüsyon konsantrasyonlarından elde edilen standart eğri ile karşılaştırılarak hesaplamalar yapıldı. Bilgisayar ekranından elde edilen sonuçlar kaydedildi.

Serum **NENF** ölçümünde, katalog no: YLA3718HU olan biont marka NENF ELISA kiti kullanıldı. Ölçüm için önce standart çalışma solüsyonları aynı şekilde hazırlandı. 1’den 5’e

kadar olan tüplerde sırasıyla; 0.75, 1.5, 3, 6 ve 12ng/ml konsantrasyonlarda toplam 5 adet standart solüsyon hazırlandı. Güvenilirliği artırmak için her bir standart solüsyon, 2'şer kez çalışılmak üzere 50µl'lik hacimler şeklinde standart solüsyon kuyucuğuna eklendi. Sonra her bir kontrol grubu ve hasta kuyucuğuna sırasıyla 40µl numune ve ardından 10µl anti-NENF antikorları eklendi. Blank kuyucuğu hariç tüm kuyucuklara 50µl streptavidin-HRP eklendi. Ardından plaka membranıyla kapatılıp 60 dk süre ile 37°C'de etüvde inkübe edildi. O süreç zarfında aynı şekilde wash buffer hazırlandı. İnkübasyondan sonra, plaka etüvden çıkarılarak akıtıldı ve ardından 250µl yıkama solüsyonu blank haricindeki tüm kuyucuklara 4 kez eklenip döküldü. Sonra sırasıyla kromojen A ve kromojen B solüsyonlarından 50µl tüm kuyucuklara pipetlendi. Böylece kuyucuklar, konsantrasyonları oranında mavi renk aldı. 37°C'de etüvde 10dk inkübe edildi. Ardından reaksiyonu sonlandırmak için stop solüsyonundan 50µl tüm kuyucuklara pipetlendi. Böylece mavi renk, sarı renge dönüştü. Hazırlanan plaka cihaza yerleştirildi. Serum NENF değerlerinin ölçümü için cihaz aplikasyonu yapıldı. Cihazda plakalardaki kuyucukların blank, standart solüsyon, hasta ve kontrol grubu numuneleri için lokalizasyonları belirlendi. Standart solüsyon konsantrasyonları girildi. Çalışacağımız NENF değerleri için uygun birim (ng/ml) ve dalga boyu ayarı yapıldı. Spektrofotometrik (endpoint) olarak absorbans ve OD 450nm'de ölçüldü. Serum NENF değerleri, OD değerleri ve standart eğri ile karşılaştırılarak hesaplandı.

Biont marka ve katalog no: YLA3717HU olan ACY1 ELISA kiti, serum **ACY1** düzeylerini ölçmek için kullanıldı. Hazırlanan standart çalışma solüsyonlarından (orijinal standart konsantrasyonu 16ng/ml idi ve 1'den 5'e kadar olan tüplerde sırasıyla; 0.5, 1, 2, 4 ve 8ng/ml konsantrasyonlarında) 50µl'lik hacimler, her biri için 2 defa çalışılmak üzere ilgili kuyucuklara eklendi. Kontrol ve hasta grubu numunelerinden 40µl'lik hacimler pipetlendikten sonra üzerlerine 10µl anti-ACY1 antikorları eklendi. Blank kuyucuğu dışındaki tüm kuyucuklara streptavidin-HRP'den 50µl'lik hacimler eklendi. Aynı sıcaklık ve süre boyunca inkübe edildikten sonra, önceden yıkama konsantratını distile su ile 30 kat dilüe ederek hazırlamış olduğumuz wash buffer ile 4 defa plakadaki kuyucuklar (blank hariç) yıkandı. Sonrasında sırasıyla kromojen A ve kromojen B solüsyonlarından 50µl'lik hacimler, mevcut tüm kuyucuklara pipetlendi. 37°C sıcaklıkta 10dk süreyle bekletildikten sonra 50µl stop solüsyonu kuyucuklara eklendi. Sonra plaka cihaza konuldu. Ölçülecek parametre için cihaz aplikasyonu yapıldı. ACY1 için ng/ml birimi ve uygun dalga boyu olan 450nm ayarı yapıldı. Spektrofotometrik yöntemle absorbans ve OD 450nm'de ölçüldü. Serum ACY1 değerleri, OD

değerleri ve standart eğri ile karşılaştırılarak hesaplandı. Sonuçlar bilgisayar ekranından alınarak kayıt altına alındı.

İstatiksel analiz

Vaka ve kontrol gruplarının normal dağılıma uygunluğunu görsel yöntemle (Histogram, Box plot ve Steam and Leaf) ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) incelediğimizde, vaka ve kontrol grubunun normal dağılmadığı ($p < 0.05$) görülmüştür. Tanımlayıcı analizlerde ortalama ve standart sapmanın yanı sıra, dağılım normal olmadığı için ortanca ve çeyrekler arası aralık da kullanıldı. Dağılımın normal olmaması ve iki bağımsız grubun karşılaştırılması söz konusu olduğu için vakaların kendi aralarında ve sağlıklı gönüllerle bu parametreler açısından karşılaştırılmasında, Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Parametreler arasındaki ilişki, dağılımın normal olmamasından dolayı iki değişkenli Spearman korelasyon değerleri ile ifade edildi. Bütün durumlarda $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($0.01 < p < 0.05$: İstatistiksel olarak anlamlı, $0.001 < p < 0.01$: Yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı, $p < 0.001$: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı). Tüm istatistiksel analizler, SPSS (Statistical Package For The Social Sciences) versiyon 22 istatistik programı kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamıza alınan tüm olguların yaş dağılımı 20-63 yıl aralığındaydı. MS hastalarının ortalama yaşı $38,25 \pm 10,15$ ve kontrol grubundakilerin ortalama yaşı $35,40 \pm 9,02$ olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$, $p=0.275$). Hasta grubundaki kadınların sayısı 21 (%65,6), erkeklerin sayısı 11 (%34,4) idi. Kontrol grubundaki kadınların sayısı 20 (%66,7), erkeklerin sayısı 10 (%33,3) idi. Çalışmada değerlendirilen MS hastalarıyla kontrol grubu arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$, $p=0.932$) (Tablo 9).

Çalışmamıza alınan MS hastalarının özgeçmişinde hastaların 1'inde DM, 1'inde hipertansiyon, 1'inde hem DM hem de hipertansiyon vardı. Diğer hastalarda bilinen bir ek hastalık öyküsü yoktu. MS hastalarından 10 kişi (%31,43) sigara içerken, 22 kişi (%68,8) sigara içmemekteydi (Tablo 10).

Hastaların sadece 2'sinin ailesinde MS öyküsü vardı. MS hastalarından 15 kişi (%46,9) optik nörit geçirmiş, 17 kişi (%53,1) ise optik nörit geçirmemişti. Hastalarımızdan 17 kişi (%53,1) benign MS hastasıydı (EDSS <3).

Çalışmaya alınan MS hastalarından 18 kişi (%56,2) IFN β -1b, 4 kişi (%12,5) IFN β -1a, 3 kişi (%9,3) fingolimod, 2 kişi (%6,2) glatiramer asetat ve 2 kişi (%6,2) kortizon kullanmaktaydı (Tablo 11). 3 kişi ise henüz ilaç kullanmamaktaydı.

MS hastalarını kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda APRIL, VSNL1, sRAGE ve NENF'in ortalama serum düzeylerinin (APRIL için Şekil 13.1; VSNL1, sRAGE ve NENF için Şekil 13.2) MS hastalarında kontrol grubuna göre daha düşük değerlere sahip olduğu görülmüştür. Bu düşüklük VSNL1 ($p<0.001$) ve APRIL ($p<0.001$) için çok yüksek düzeyde, sRAGE ($p<0.01$, $p=0.002$) ve NENF ($p<0.01$, $p=0.003$) için yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlıdır. Ortalama serum ACY1 değeri (Şekil 13.2) ise MS hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek saptandı ve bu yükseklik, çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlıdır (ACY1, $p<0.001$) (Tablo 12).

MS hastalarını cinsiyetlerine göre karşılaştırdığımızda ortalama serum APRIL ($p>0.05$), VSNL1 ($p>0.05$), sRAGE ($p>0.05$), NENF ($p>0.05$) ve ACY1 ($p>0.05$) değerleri için, kadınların erkeklere göre daha yüksek değerlere sahip olduğu görülmüştür. Ancak bu yükseklikler istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo 13).

MS hastalarında sigara içenler ile sigara içmeyenler karşılaştırıldığında, ortalama serum APRIL ($p>0.05$) ve ACY1 ($p>0.05$) değerlerinin sigara içenlerde içmeyenlere göre daha yüksek olduğu tespit edildi. Ancak bu yükseklik, istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ortalama serum VSNL1 ($p>0.05$), sRAGE ($p>0.05$) ve NENF ($p>0.05$) değerlerinin ise sigara içenlerde

içmeyenlere göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Ancak bu düşüklük, istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo 14).

MS hastalarını aktif ve inaktif dönem olarak 2 gruba ayırdığımızda APRIL ($p>0.05$), VSNL1 ($p>0.05$), sRAGE ($p>0.05$) ve ACY1 ($p>0.05$)'in ortalama serum değerlerinin, aktif dönemde olan hastalarda inaktif dönemdeki hastalara göre daha düşük olduğu görülmüştür. Ancak bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı değildir. Yine aynı gruplar arasında aktif dönemde olan hastaların ortalama serum NENF ($p>0.05$) değerleri, inaktif dönemdeki hastalara göre daha yüksek tespit edilmiştir. Ancak bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo 15).

MS hastalarında serum APRIL ($p>0.05$), VSNL1 ($p>0.05$), sRAGE ($p>0.05$), NENF ($p>0.05$) ve ACY1 ($p>0.05$) değerlerinin EDSS ile korelasyonu incelendiğinde, EDSS ile serum VSNL1 arasında pozitif korelasyon saptanırken, EDSS ile diğer parametrelerin serum düzeyleri arasında negatif korelasyon saptandı, ancak bu korelasyonlar istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo 16).

MS hastalarında hastalık süresi (yıl) ile serum APRIL ($p<0.001$), VSNL1 ($p>0.05$), sRAGE ($p>0.05$), NENF ($p>0.05$) ve ACY1 ($p>0.05$) değerleri arasındaki korelasyon incelendiğinde, bütün parametreler hastalık süresi ile negatif yönde korelasyon göstermektedir, ancak bu korelasyon sadece APRIL ($p<0.001$) için çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 14) (Tablo 17).

APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 serum değerlerinin tüm olgularda (vaka + kontrol) yaş ile korelasyonu incelendiğinde hasta grubunda, yaş ve serum ACY1 ($p>0.05$) değerleri arasında pozitif yönde korelasyon izlenirken, yaş ile diğer parametrelerin (APRIL, VSNL1 ve sRAGE için $p>0.05$) serum değerleri arasında negatif korelasyon izlendi. Ancak bu korelasyon sadece NENF ($p<0.05$, $p=0.012$) için ve negatif yönde istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 15). Yaş artıkça serum NENF değerleri azalmıştır. Kontrol grubunda, yaş ile serum ACY1 ($p>0.05$) düzeyleri arasında negatif korelasyon izlenirken, yaş ile diğer parametrelerin (APRIL, VSNL1, sRAGE ve NENF için $p>0.05$) serum düzeyleri arasında pozitif korelasyon izlenmiştir. Ancak korelasyonlar anlamlı değildir (Tablo 18).

MS hastalarında optik nörit geçirenler ile geçirmeyenler arasında ortalama serum APRIL ($p>0.05$), VSNL1 ($p>0.05$), sRAGE ($p>0.05$), NENF ($p>0.05$) ve ACY1 ($p>0.05$) düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

MS hastalarında atak sıklığı ile serum APRIL ($p>0.05$), VSNL1 ($p>0.05$), sRAGE ($p>0.05$), NENF ($p>0.05$) ve ACY1 ($p>0.05$) düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon izlenmedi.

MS hastalarındaki atak sıklığını, ortalama yılda 1 kez olanlar ve ortalama yıldan 1 den fazla olanlar olarak 2 gruba ayırdığımızda, ortalama serum APRIL ($p>0.05$), VSNL1 ($p>0.05$), sRAGE ($p>0.05$), NENF ($p>0.05$) ve ACY1 ($p>0.05$) düzeyleri açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 9. Vaka (MS) ve kontrol grubunun demografik verileri

	Vaka grubu (n=32)	Kontrol grubu (n=30)	p değeri
Yaş ortalaması (Mean ± SD)	38,25 ± 10,15	35,40 ± 9,02	0.275
Kadın	21	20	0.932
Erkek	11	10	

SD: Standart deviasyon

Tablo 10. Vaka (MS) ve kontrol grubunun özgeçmiş ve alışkanlıklarının karşılaştırılması

Özgeçmiş ve alışkanlık	Vaka grubu		Kontrol grubu	
	n	(%)	n	(%)
Özellik yok	29	90,6	26	86,6
Hipertansiyon	2	6,25	3	10
DM	2	6,25	1	3,3
Sigara (+)	10	31,43	4	13,3

Tablo 11. MS hastalarının kullandığı MS ilaçlarının dağılımı

Kullanılan tedavi	Hasta sayısı (n)	Yüzdesi (%)
IFN β -1b	18	56,2
IFN β -1a	4	12,5
Fingolimod	3	9,3
Glatiramer asetat	2	6,2
Kortizon	2	6,2
İlaç kullanmayan	3	9,3

Tablo 12. Vaka (MS) grubu ile kontrol grubunun ortalama serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerleri açısından karşılaştırılması

	Vaka grubu			Kontrol grubu			p değeri
	Median	AA	(Mean \pm SD)	Median	AA	(Mean \pm SD)	
APRIL (ng/ml)	221,9	115,453	284,128 \pm 230,252	423,081	716,606	641,504 \pm 513,617	<0.001
VSNL1 (ng/ml)	8,393	1,835	8,663 \pm 2,692	13,774	11,623	14,261 \pm 6,876	<0.001
sRAGE (ng/ml)	4,675	1,430	5,138 \pm 2,380	8,592	9,756	8,932 \pm 6,876	0.002
NENF (ng/ml)	4,494	1,632	5,231 \pm 2,747	6,701	9,056	9,018 \pm 5,739	0.003
ACY1 (ng/ml)	4,569	3,249	5,551 \pm 3,550	2,317	2,387	2,906 \pm 2,482	<0.001

AA: eyrekler arası aralık

Tablo 13. MS hastalarında ortalama serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerlerinin cinsiyet açısından karşılaştırılması

Birim (ng/ml)	MS Hasta						p değeri
	Kadın			Erkek			
	Mean	SD	Median	Mean	SD	Median	
APRIL	316,708	\pm 275,582	228,270	221,930	\pm 77,291	220,553	0,606
VSNL1	8,820	\pm 3,188	8,510	8,364	\pm 1,410	7,952	0.953
sRAGE	5,487	\pm 2,723	4,941	4,472	\pm 1,411	4,013	0.184
NENF	5,539	\pm 3,228	4,808	4,643	\pm 1,406	4,150	0,331
ACY1	5,112	\pm 2,431	4,721	6,389	\pm 5,106	4,326	0,953

Tablo 14. MS hastalarında sigara içenler ile içmeyenlerin ortalama serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerleri açısından karşılaştırılması

	MS, sigara (+) (Mean ± SD)	MS, sigara (-) (Mean ± SD)	p değeri
APRIL (ng/ml)	234,839 ± 44,567	306,532 ± 275,186	0.760
VSNL1 (ng/ml)	7,766 ± 0,764	9,071 ± 3,145	0.122
sRAGE (ng/ml)	4,209 ± 0,678	5,561 ± 2,751	0.122
NENF (ng/ml)	4,011 ± 0,784	5,785 ± 3,138	0.031
ACY1 (ng/ml)	7,582 ± 4,838	4,628 ± 2,391	0.061

Tablo 15. Aktif MS ve İnaktif MS hastalarının ortalama serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerleri açısından karşılaştırılması

	Aktif MS			İnaktif MS			p değeri
	Median	ÇAA	(Mean ± SD)	Median	ÇAA	(Mean ± SD)	
APRIL (ng/ml)	218,201	86,441	223,277 ± 71,709	267,086	154,380	337,820 ± 302,794	0.213
VSNL1 (ng/ml)	8,320	1,636	7,919 ± 1,072	8,510	2,776	9,321 ± 3,473	0.375
sRAGE (ng/ml)	4,085	1,250	4,535 ± 1,140	4,944	2,295	5,671 ± 3,032	0.168
NENF (ng/ml)	4,650	1,662	4,806 ± 1,512	4,330	2,234	5,606 ± 3,508	0.865
ACY1 (ng/ml)	4,326	2,539	5,005 ± 3,180	5,456	3,450	6,032 ± 3,879	0.375

ÇAA: Çeyrekler arası aralık

Tablo 16. MS hastalarında serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerlerinin EDSS ile korelasyonu

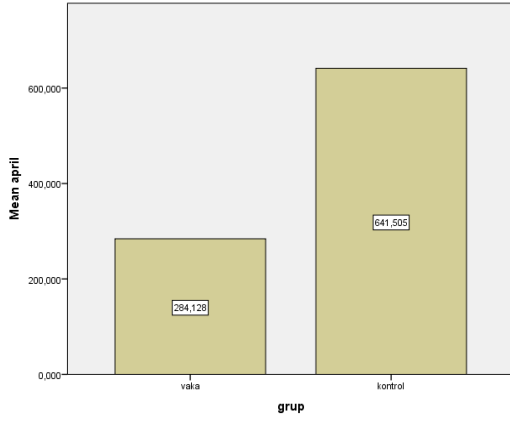
		EDSS	
		rho değeri	p değeri
APRIL	(ng/ml)	-0,195	0.285
VSNL1	(ng/ml)	0,115	0.531
sRAGE	(ng/ml)	-0,333	0.063
NENF	(ng/ml)	-0,094	0.607
ACY1	(ng/ml)	-0,247	0.196

Tablo 17. MS hastalarında hastalık süresi (yıl) ile serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerleri arasındaki korelasyon

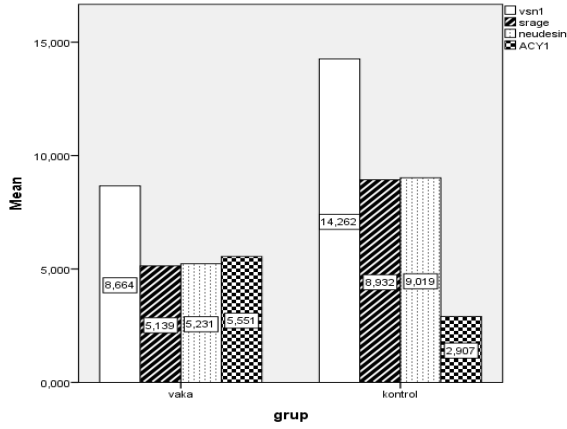
		Hastalık süresi (yıl)	
		rho değeri	p değeri
APRIL	(ng/ml)	-0,611	<0.001
VSNL1	(ng/ml)	-0,144	0.431
sRAGE	(ng/ml)	-0,313	0.081
NENF	(ng/ml)	-0,254	0.161
ACY1	(ng/ml)	-0,110	0.550

Tablo 18. Serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerlerinin tüm olgulardaki (vaka + kontrol) yaş ile korelasyonu

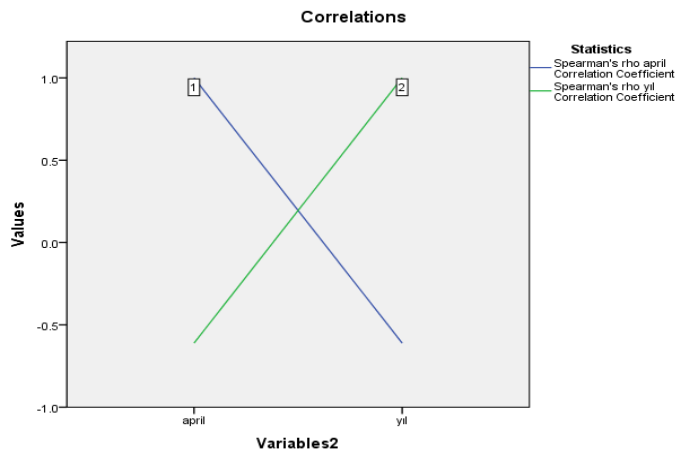
Birim (ng/ml)	Yaş		Yaş	
	Hasta rho	Hasta p değeri	Kontrol rho	Kontrol p değeri
APRIL	-0,304	0,091	0,204	0.279
VSNL1	-0,110	0,551	0.039	0.837
sRAGE	-0,241	0,184	0,050	0.793
NENF	-0,440	0,012	0,126	0.506
ACY1	0,046	0,803	-0,278	0.136



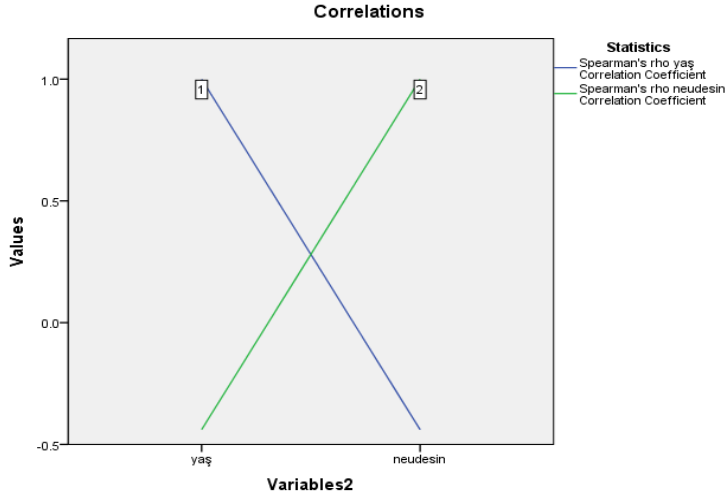
Şekil 13.1. Vaka (MS) ve kontrol grubunun ortalama serum APRIL değerleri (ng/ml) açısından karşılaştırılması



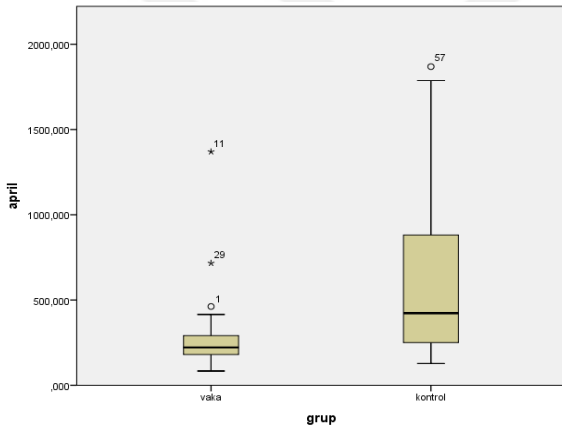
Şekil 13.2. Vaka (MS) ve kontrol grubunun ortalama serum VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 değerleri (ng/ml) açısından karşılaştırılması



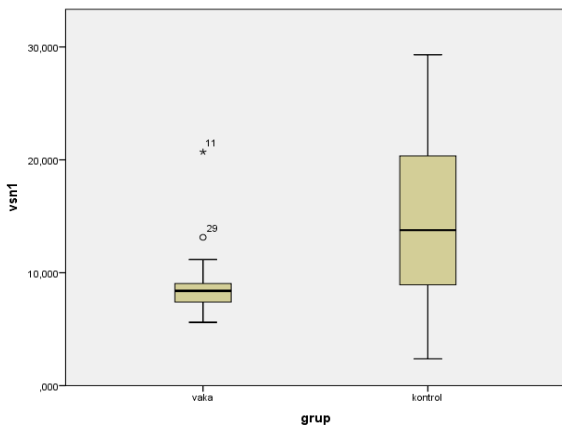
Şekil 14. MS hastalarında, hastalık süresi (yıl) ile serum APRIL düzeyleri (ng/ml) arasındaki korelasyon



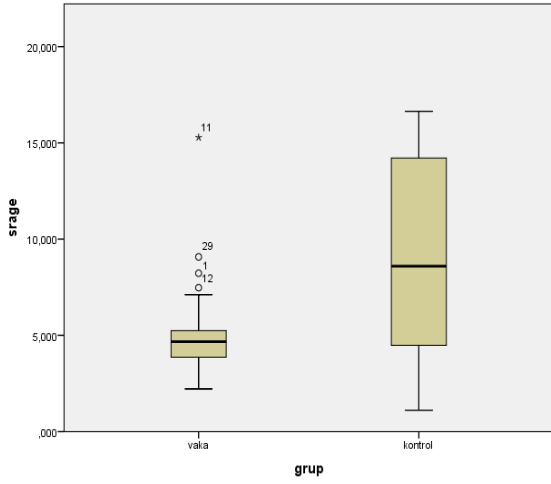
Şekil 15. MS hastalarında, yaş ile serum NENF düzeyleri (ng/ml) arasındaki korelasyon



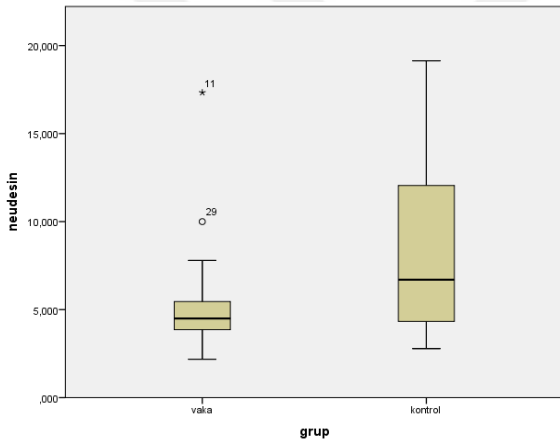
Şekil 16. Ortalama serum APRIL düzeyleri (ng/ml) açısından Vaka (MS) ile kontrol grubunun karşılaştırılması



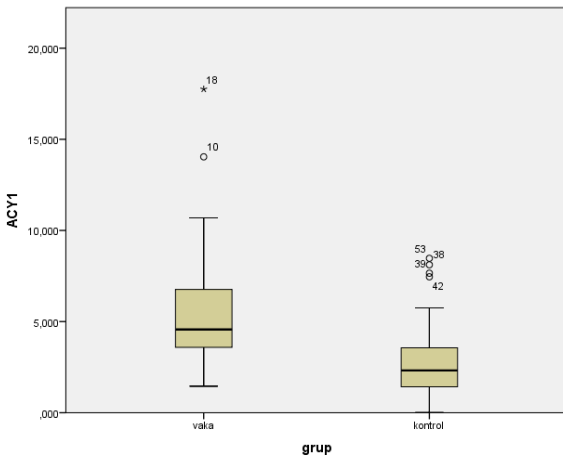
Şekil 17. Ortalama serum VSNL1 düzeyleri (ng/ml) açısından Vaka (MS) ile kontrol grubunun karşılaştırılması



Şekil 18. Ortalama serum sRAGE düzeyleri (ng/ml) açısından Vaka (MS) ile kontrol grubunun karşılaştırılması



Şekil 19. Ortalama serum NENF düzeyleri (ng/ml) açısından Vaka (MS) ile kontrol grubunun karşılaştırılması



Şekil 20. Ortalama serum ACY1 düzeyleri (ng/ml) açısından Vaka (MS) ile kontrol grubunun karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

MS, immün aracılı inflamasyon, demiyelinizasyon ve müteakip aksonal hasardan kaynaklanan, motor ve duyu fonksiyonu kaybıyla karakterize edilen SSS'nin kronik, inflamatuvar bir hastalıdır (3, 146). MS'in etyopatogenezi henüz tam olarak bilinmiyor, ancak genetik olarak duyarlı bireylerde otoimmüniteyi tetikleyen, miyelin reaktif T hücreleri ve diğer inflamatuvar hücrelerin (B lenfositler, plazma hücreleri, monositler, makrofajlar) SSS'ye girmesinin miyelin kaybına, aksonal hasara ve oligodendrositlerin ölümüne yol açtığı düşünülmektedir (112). Çalışmamızda MS hastalarında kontrol grubuna göre daha düşük ortalama serum APRIL ($p<0.001$, çok yüksek düzeyde anlamlı), VSNL1 ($p<0.001$, çok yüksek düzeyde anlamlı), sRAGE ($p<0.01$, yüksek düzeyde anlamlı) ve NENF ($p<0.01$, yüksek düzeyde anlamlı) seviyelerini ve daha yüksek ortalama serum ACY1 ($p<0.001$, çok yüksek düzeyde anlamlı) seviyelerini tespit ettik. Bu da bize MS hastalığı etyopatogenezinde APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 moleküllerinin rol almış olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda hastalığın pronozunu gösteren EDSS ile serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF, ACY1 seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon olmaması (tüm parametreler için $p>0.05$) bu parametrelerin hastalığın başlangıcını tetiklemiş olabileceğini, ancak hastalığın prognozunu gösteren önemli parametrelerden biri olan EDSS'yi direkt olarak etkilemediğini düşündürmüştür. Çalışmamızda yalnızca hasta ve kontrol serum seviyeleri değerlendirildi, ancak BOS seviyelerine de bakılması daha da yararlı olacaktır. BOS alınmasının invazif bir girişim olması ve komplikasyonu yüksek olması sebebiyle, bu çalışmamızda BOS değerlerine bakılmamıştır. Ayrıca MS hastalarında optik nörit geçirenler ile optik nörit geçirmeyenler arasında bu parametrelerin ortalama serum seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (tüm parametreler için $p>0.05$). Bu da APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 moleküllerinin optik nörit gelişimi üzerinde etkisinin olmayacağını düşündürmektedir. MS hastalarında atak sıklığı ile bu parametrelerin serum düzeyleri arasında anlamlı korelasyon izlenmedi (tüm parametreler için $p>0.05$). MS hastalarındaki atak sıklığını, ortalama yılda 1 kez ve ortalama yıldan 1 den fazla olanlar olarak 2 gruba ayırdığımızda ortalama serum APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 düzeyleri açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (tüm parametreler için $p>0.05$). Atak sıklığının bu parametrelerle bir ilişkisinin olmadığını, başka faktörlerle bir ilişkisi olabileceğini düşünüyoruz.

Tanımlayıcı analizlerde mean ve SD'nin yanında, verilerin dağılımı normal olmadığı için karşılaştırmalarda median değerlerden ve ÇAA'dan da yararlandık. ÇAA, dağılımdaki verilerin

ortadaki 0.50'sinin yer aldığı aralığı belirtmek için kullanılır. Aşırı uç değerlerden etkilenmez. Özellikle uçtaki değerlerden çok ortadaki değerlerle ilgilenildiği durumlarda yararlıdır.

APRIL, TNF süper ailesinin yeni tanımlanan bir üyesidir ve adından da anlaşılacağı gibi, ilk olarak tümör proliferasyonunu indükleyen bir faktör olarak tarif edilmiştir (112). Nötrofil, makrofaj, kemik iliği stromal hücreleri, monositler, makrofajlar, dendritik hücreler ve T hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli hücreler tarafından, çözünür bir homotrimer olarak salgılanan ve 250 amino asitten oluşan bir proteindir (20, 21, 110, 112). Bir dizi tümör tarafından aşırı derecede eksprese edilir. Yüksek APRIL mRNA seviyeleri, tümör hücre çizgilerinde ve çeşitli primer tümör dokularında tespit edilmiştir (22, 115). İnsan solid tümörlerindeki çoğu vakada, tümör stromasında bulunan nötrofiller, APRIL'in esas kaynağını oluşturmuştur (116). İnsan miyeloid lösemi hücre çizgilerinde ve Malign glioblastoma hücre hatlarında tespit edilmiştir (115). Yapılan çalışmalarda B hücresi uyarıcı moleküller olan BAFF (B hücresi aktive edici faktör) ve APRIL'in, B hücre havuzunun ve humoral bağışıklığın korunmasında kritik birer faktör olduğu belirtilmiştir. Etyopatogenezinde otoimmünite olduğu tespit edilmiş olan SLE, IgA nefropati, Sjögren sendromu ve Romatoid artrit hastalarının serumlarında artmış APRIL seviyeleri tespit edilmiştir (20, 147). Yine yapılan diğer çalışmalarda SLE'li hastaların böbreklerinde ve Romatoid artritli hastaların alınan sinoviyal sıvılarında kronik inflamasyon varlığı, APRIL seviyesiyle pozitif korele bulunmuştur (148).

MS'de inflamatuvar hücrelerin SSS'ye göçü olduğu ve yine MS plaklarında bu inflamatuvar hücrelerin yer aldığı bilinmektedir (2, 50, 55). Bu inflamatuvar hücreler tarafından APRIL'in sentezlendiği önceki yapılan birçok çalışmada ifade edildiği üzere, APRIL'in MS ile bağlantılı olabileceğini, MS'de APRIL düzeylerinin değişkenlik gösterebileceğinin muhtemel olduğunu düşündük. SPMS hastalarında intra-meningeal germinal merkezlerin varlığı, SSS içinde antijen maruziyetinde lokal olarak aktive edilen B hücrelerinin olduğunu gösterir. Ayrıca, MS hastalarının BOS'unda, hafıza B hücrelerinin seçici bir şekilde fazlalığı bildirilmiştir (2, 21). Yine B hücre yüzeyinde APRIL reseptörleri olduğunu (112), APRIL'in B hücre matürasyonunu ve onların plazma hücrelerine dönüşmelerine aracılık ettiğini biliyoruz (20). MS'de de miyelin kılıf ve oligodendrositlere karşı plazma hücrelerinden özgül antikörlerin üretilmesi (21), aklımıza MS patogenezinde APRIL'in bir rolü olabileceğini getirdi. Daha önceki çalışmalarda MS hastalarında, monosit ve T lenfositlerde sağlıklı kontrollere göre APRIL mRNA düzeylerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (21). Yine başağrısı kontrolleri ile kıyaslandığında plazma ve BOS APRIL düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı olmasa da MS'de daha yüksek olduğu saptanmıştır. MS'de mevcut APRIL yüksekliğinin nedeni olarak reaktif

astrozitlerin iltihap sırasında APRIL ekspresyonunu upregüle etmesi olarak gösterilmiştir. İmmuno histokimyasal olarak APRIL-pozitif hücrelerin astrositler olduğu ve bunların kontrol beyinlerinde MS'lilere kıyasla daha az olduğu tespit edilmiştir. APRIL-pozitif astrositler, gliozis alanında başta olmak üzere, endotelyumda ve periventriküler alanlarda da görülmüştür (112). Bizim çalışmamızda ise kontrol grubuna göre çok yüksek anlamlılık düzeyinde, düşük ortalama serum APRIL ($p<0.001$) seviyeleri saptandı. Otoimmün ve inflamatuvar bir hastalık olduğu bilinen MS'de de yüksek ortalama serum APRIL seviyelerini beklerdik. Ancak MS'de hastaların tedavisinde kullanılan immünmodulator ilaçların, inflamasyon azaltıcı etkilerinden dolayı, inflamasyonla ilişkili durumlarda artan APRIL düzeylerinin düşmüş olabileceğini düşünüyoruz. Bizim çalışmamızda serum APRIL ($p>0.05$) düzeyleri ile hastaların EDSS skorları arasındaki korelasyon araştırıldı, fakat aralarında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Bu da bize hastalığın kliniğinde başka faktörlerin de rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Hastalığın aktif ve inaktif dönemleri arasında ortalama serum APRIL seviyelerinin karşılaştırılması ile ilgili daha önce yapılmış çalışmalar mevcut değildir. Bizim çalışmamızda ise hastalığın aktif dönemindeki ortalama serum APRIL ($p>0.05$) seviyeleri, inaktif döneme göre anlamlı olmasa da daha düşük bulunmuştur. Bu da bize yine kullanılan ilaçların anti-inflamatuvar etkilerinden dolayı, inflamasyon durumunda salınan APRIL'ın seviyelerinin azalmış olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca MS hastalarında, hastalık süresi (yıl) ile serum APRIL ($p<0.001$) seviyeleri arasında çok yüksek anlamlılık düzeyinde, negatif bir korelasyon saptandı. Hastalık süresi arttıkça serum APRIL seviyesinin azalması, meydana gelen nöronal dejenerasyona korele olarak APRIL seviyesinin düşmesi, ileride yapılacak yeni çalışmalar ışığında hastalığın seyriyle ilgili fikir sahibi olunmasında yardımcı olabilir.

VSNL1, 190 amino asitten oluşan, nöronal kalsiyum sensör protein ailesinin bir alt üyesidir (23, 24, 117). Nöronal hasarı gösteren bir belirteçdir (149). Serebellar golgi, basket, granül, stellat ve dentat nükleus nöronlarında eksprese edilir. Ayrıca kortikal piramidal hücreler, internöronlar, septal nöronlar, subtalamik ve hipokampal nöronlarda da eksprese edildiği saptanmıştır (25). Tüm SSS bölgelerinde bulunur ve beyin hücrelerinin tahrip olmasından sonra BOS'a nüfuz eder. Ancak VSNL1 konsantrasyonu, henüz kanda ve BOS'ta yeterince tespit edilememiştir (120).

VSNL1'de, polipeptid zinciri üzerinde ikinci pozisyonda yer alan glisin rezidüsü üzerinden miristoil grubu eklenir. Bu durum zarların hedeflenmesini kolaylaştırır. EF-el motifi 2, 3 ve 4'ün Ca^{2+} bağlamasıyla VSNL1, konformasyonel değişikliğe uğrar. Bu değişikliğe kalsiyum-miristoil anahtarı denir ve bu sayede VSNL1, intraselüler kısımdan membranın iç kısımlarına

bağlanır. Kalsiyumun hücresel düzeydeki değişikliğine cevap olarak, Adenilil siklaz enziminin aktivitesini düzenler. Aynı zamanda intraselüler Ca^{2+} düzeyleri düştüğünde, hücre içine Ca^{2+} girişini artırır. Yine aynı enzim üzerinden, direkt ya da indirekt olarak intraselüler sinyal yollarını düzenler (118).

VSNL1, kalsiyuma bağlı nöronal hasar ile ilişkilidir. Değişmiş Ca^{2+} dengesinin oluşturmuş olduğu patolojik mekanizmalara katılarak nöronal kayba yol açan mekanizmalarda rol aldığı tespit edilmiştir. Ca^{2+} ilişkili nörotoksisite, AH patogenezinde rol oynar. AH'de, VSNL1 içeren nöronlarda hasar gözlemlenmiş ve bu hastaların BOS'unda, yüksek VSNL1 düzeyleri tespit edilmiştir (26, 27). AH'de biriken amiloid β , Ca^{2+} dengesini bozar. Kalsenilin up-regüle edilirken, VSNL1 down-regüle edilir. Buna ek olarak, nöroprotektif kalsiyum tampon proteinleri olan kalretinin ve kalbindin-D28K AH'de downregülasyona uğrar. Amiloid β , iç depolardan kalsiyum salınmasını ve eksternal kalsiyum akışını arttırdığı için, kalsiyum sensörü ve tampon protein oranının bu dengesizliği, nöronları amiloid β ile indüklenen kalsiyum aracılı nörotoksisiteye karşı daha savunmasız hale getirir (122). Nöronlarda kalsiyumun aşırı yüklenmesi, SSS'de çeşitli nekrotik ve apoptotik yolların aktivasyonuna neden olabilir (123). Yapılan çalışmalarda, AH'de hem plazmada hem de BOS'ta artmış VSNL1 düzeylerinin olduğu tespit edilmiştir (124). BOS'ta artan VSNL1 seviyeleri amiloid β , tau, ApoE4 seviyeleri ile korelasyon göstermiştir. Son zamanlarda VSNL1, BOS biyomarkeri ve AH'de bilişsel düşüş için prognostik belirteç olarak değerlendirilmiştir. Mevcut bir hipoteze göre AH'de visinin benzeri proteinlerin azalmış ekspresyonu, VSNL1'i eksprese eden nöronların ölümüne yol açar. Artmış BOS VSNL1 seviyelerinin ise bu hücrelerin ölümünden kaynaklandığı vurgulanmıştır (26). Literatürde MS hastalarında serum VSNL1 düzeyleri ile ilgili yapılan bir çalışma yoktur. Bizim çalışmamızda ise MS hastalarında kontrol grubuna göre çok yüksek anlamlılık düzeyinde, düşük ortalama serum VSNL1 ($p < 0.001$) düzeyleri tespit edildi. MS otoimmün inflamatuvar bir hastalık olduğu için miyelin kılıf hasarı, aksonal hasar ve bunları takiben nöron hasarı vardır. SSS'de VSNL1 eksprese eden nöronların kaybı neticesinde, düşük serum VSNL1 düzeylerinin olabileceğini düşünüyoruz. Ancak BOS VSNL1 düzeyleri ile beraber değerlendirilmesi geleceğe dair daha aydınlatıcı olacaktır. Bu nedenle yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

RAGE, 404 amino asitten oluşan bir protein olup immüoglobülin süper ailesinin multiligand reseptörüdür (30, 127). Kalp, beyin, karaciğer ve böbrek gibi çoğu organda ve damarlarda eksprese edilir (126). RAGE ekspresyonu normal şartlar altında minimaldir, fakat hücresel stres sırasında seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir (129). RAGE vasküler düz kas

hücreleri, monositler, makrofajlar, B lenfositler, CD4+ ve CD8+ T lenfositler gibi ateroskleroz ve immün-inflamatuar yanıtta rol alan hücrelerde eksprese edilir. Ayrıca nöronlar, hepatik stellat hücreleri, hepatositler ve hepatom hücrelerinde de eksprese edildiği belirtilmiştir (28, 129, 132, 134, 136). Çoğu çalışma, monosit, makrofaj ve endotel hücreleri gibi hücreler üzerindeki ligand-RAGE etkileşiminin, proinflamatuar ve protrombotik moleküllerin upregülasyonuna ve hücrel migrasyona aracılık ettiğini göstermiştir (28). AGE'ler proteinler, nükleik asitler ve lipidlerin nonenzimatik glikasyon ve oksidasyonu sonucu oluşan RAGE ligandlarıdır (130). RAGE, ligandı ile etkileştiğinde sinyal ileti yollarını aktive eder ve böylece hem hücre stresine hem de inflamasyona aracılık eder (28). Ligandın RAGE'ye bağlanması, hücre içi oksidatif stresi artırır ve IL-1 α , IL-6 ve TNF- α gibi pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini arttıran NF- κ B'nin aktivasyonuna yol açar (4). Oksidatif stres ve inflamasyonda hem RAGE hem de ligandlarında artış olur (28-30).

Membrana bağlı tam uzunlukta RAGE'den metalloproteinazlar ile proteolitik yıkım sonucu sRAGE oluşabildiği gibi splice izoformu dediğimiz kesilmiş bir RAGE mRNA'sından ekleme varyantı olarak da sRAGE oluşabilir (129). Bu form, transmembran alanından yoksundur ve plazmada sekrete edilir (132). sRAGE, ligandları hücre dışında tuzak olarak bağlar. Yani, ligandların membrana bağlı olan RAGE'ye bağlanmasını ve AGE-RAGE sinyalizasyonunun olumsuz etkilerini önler (28, 132). Metile edilmiş sığır albümin kullanılarak duyarlaştırılmış farelerde yapılan bir deneyde Ligand-RAGE etkileşiminin engellenmesi amacıyla sRAGE, Anti-RAGE IgG'den hazırlanan F(ab')₂ fragmanları ve anti-S100A12 IgG kullanılarak, gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarının suprese edilip edilmediği test edildi. Bu testte inflammatuar hücrelerin infiltrasyonu, granüloma oluşumu ve ödemin azaldığı tespit edildi. Farelerde yapılan başka bir deneyde sRAGE'nin deneysel otoimmün ensefalomyelit oluşumunu suprese ettiği gözlemlenmiştir (28). Bazı çalışmalarda, düşük sRAGE seviyelerinde inflammatuar hücrelerin SSS'ye daha çok göç ettiği ve sonuç olarak MS hastalarında daha çok nökslerin yaşanmasına sebep olduğu vurgulanmıştır (132).

RAGE ve sRAGE, iltihaplanmanın karşıt oyuncularındır. sRAGE inflamasyonu azaltırken, RAGE inflamasyonu artırır. Artan monositik RAGE ekspresyonu ve azalmış plazma sRAGE seviyeleri, myokard enfarktüsünde oluşan kardiyojenik şokta yüksek mortaliteyle ilişkilidir (133). Basta ve ark. sRAGE'deki azalmanın tip II DM ve hiperglisemi ile ilişkili olduğunu vurgulamıştır (135). sRAGE serum seviyeleri, tip I ve tip II diyabetli hastalarda ve özellikle böbrek fonksiyonlarında bozukluk olan, özellikle son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda yükselmiştir. AGE'lerdeki artışlar RAGE'yi artırırken, artan RAGE'lerden de sRAGE'ler

oluşur (134). Çoğu durumda, RAGE ifadesi diyabetik aorta, böbrek ve retina gibi hastalık durumlarında artmıştır (28). RAGE ve ligandları KAH patogeneziyle bağlantılıdır ve AKS'de hem RAGE hem de sRAGE düzeylerinde artış olur. RAGE, çeşitli karaciğer rahatsızlıklarına yol açar ve hepatoselüler karsinomda düzeyi artar (129).

Yapılan çalışmalar, vasküler demans ve AH'de, sağlıklılara göre daha düşük sRAGE düzeylerini rapor etmekte ve altta yatan hastalık patolojisine bakılmaksızın düşük sRAGE'nin hasarın bir göstergesi olabileceğini düşündürmektedir (132). Andersson ve ark. aktif MS lezyonlarında RAGE'nin upregüle edildiğini saptadı. 2003'te Yan ve ark. RAGE immünreaktivitesinin MS hastalarındaki beyin örneklerinde, özellikle mononükleer fagositler ve CD4+ T hücrelerinde arttığını göstermişlerdir. Bu, deneysel otoimmün ensefalomyelitli farelerinin spinal kord dokusunda doğrulandı (4).

Baird MS Merkezinde (Jacobs Nörolojik Enstitü, Buffalo, USA) klinik olarak stabil olan MS tanısı konmuş 37 hasta (24 kadın ve 13 erkek, ortalama yaş 44.3 ± 9.1 yıl) ve sağlıklı kontrollerden oluşan 22 kişi üzerinde yapılan bir çalışmada, MS hastalarında kontrol grubuna göre daha düşük sRAGE seviyeleri saptanmıştır ($p < 0.005$). Bu çalışmada sonuç olarak, düşük sRAGE seviyelerinin artmış inflamatuvar cevaplarla ilişkili olabileceği ve MS klinik patolojisinde sRAGE'nin rolüne ilişkin ileri araştırmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (132). Bizim çalışmamızda da MS hastalarında, kontrol grubuna göre yüksek anlamlılık düzeyinde, düşük ortalama serum sRAGE ($p < 0.01$) seviyeleri saptanmış olup bu çalışmayı destekler niteliktedir. Bu da bize serum sRAGE seviyeleri düşük olduğu için, SSS'ye inflamatuvar hücre göçünün fazla olduğunu, RAGE'nin bu inflamatuvar hücreler tarafından aşırı eksprese edildiğini, AGE-RAGE etkileşiminin önlenilemediğini ve sinyal ileti yollarının aktivasyonu neticesinde inflamasyonun arttığını düşündürmektedir. Tüm bu durumlar, RAGE'nin inflamatuvar bir zeminde oluşan MS'in etyopatogenezine katkısının olabileceğini gösterir. Yine aynı çalışmada yapılan regresyon analizinde serum sRAGE ve EDSS arasında negatif bir ilişki bulunmuştur ($p = 0.012$). Bu sonuçlar, düşük sRAGE seviyeleri ile hastalık şiddeti arasındaki ilişkiyi gösterir (132). Bizim çalışmamız da buna benzer olup serum sRAGE ($p > 0.05$) ile EDSS arasında negatif korelasyon saptandı, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Başka bir çalışmada, Sternberg ve ark. MS hastalarında RAGE-pozitif monosit ve T-lenfosit yüzdesinin anlamlı olarak arttığını gösterdi. MS hastalarında membrana bağlı RAGE artarken, sRAGE azalmış ve hastanın özürüllüğü ile ters orantılı olarak reseptörün MS progresyonunda yer aldığını ve bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini belirtmiştir (4). Bu çalışma da bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Mevcut bulgular neticesinde, sRAGE'nin

inflamasyonu azaltmasından dolayı hastalığın tedavisi, hastalığın profilaksisinin sağlanması ve hastalığın progresyonunu yavaşlatabileceği yönünde yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacağını düşündürmektedir.

NENF, 172 amino asitlik bir proteinden oluşan, membran ilişkili progesteron reseptör ailesinin bir üyesidir (31). Nöron diferansiyasyonu sağlayan ve sağkalımı artıran bir nörotrofik faktördür (136). NENF, SSS'de bolca eksprese edilir ve nörotrofik aktivitesini, MAPK ve PI3K yolları üzerinden gösterir (136). Farelerin embriyonik dönemlerinde, özellikle beyin ve spinal kordda üretilir. Postnatal dönemde ise beyindeki nöronlar, kalp, yağ doku, akciğer, böbrek ve çizgili kasta üretilir (31, 140). Beyin bölgesinin tüm alanlarındaki nöronlarında, özellikle serebral korteks, hipokampus, talamus ve hipotalamusta eksprese edilir, ancak glial hücrelerde eksprese edilmemektedir. Hipotalamik nükleusta bolca sentezlenen ve yiyecek alımını azaltan anoreksijenik bir faktördür (136). Farelerin beyaz yağ dokusunda da bolca sentezlenir ve yağ sentezini azaltır. Dolayısıyla enerji metabolizmasında rolleri vardır. NENF verilmeyen farelerde sempatik sistem aktivitesi, enerji harcanması ve beyaz yağ dokusunda lipoliz artar. Kahverengi yağ dokusunda, yağ asidi oksidasyonu ve ısı üretimi artar. Böylece fareler, yüksek yağlı diyetin tetiklediği obeziteye karşı, dirençli hale gelirler (31, 140). Birçok çalışma, NENF'in nöronal gelişim ve fonksiyon için kritik bir faktör olduğunu göstermektedir (140). Kimura ve ark. tarafından 2005'te NENF'in serebral korteks nöronlarında apoptozisi azaltarak, nöronal sağ kalımı artırdığı vurgulanmıştır. Aktivitesini, spesifik hücre yüzeyi reseptörüne bağlayarak gösterir. Adipositlerde ve kanser hücrelerinde olduğu gibi MAPK ve PI3K yollarını aktive eder (141). Beyin gelişimi sırasında rekombinant NENF, PI-3K ve PKA yolları yoluyla nöral prekürsör hücrelerin mikrotübüle bağlı protein 2 (MAP-2) pozitif nöronlara farklılaşmasını sağlayarak nöronal sayıları doğrudan artırırken, MAPK ve PKA yolları üzerinden bölünen nöral prekürsör hücrelerinin proliferasyonunu dolaylı olarak artırır (136). DNA hipometilasyonu ile aşırı sentezlenen veya uyarılan NENF, tümör oluşumunu ve invazyonunu uyarmaktadır (31). NENF'in, primer meme tümörlerinin yanı sıra serviks, kolon, akciğer ve cilt kanseri ile malign lenfoma ve lösemi de dahil olmak üzere birçok insan tümöründe aşırı derecede eksprese edildiği tespit edilmiştir (138). Fare nöroblastomunda aşırı sentez edilir. Tüm bu bulgular neticesinde, NENF'in kanser ve obezite tedavisi için yeni bir hedef olması beklenmektedir (31).

Literatürde MS hastalarında NENF ile ilgili yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda ise MS hastalarında kontrol grubuna göre yüksek anlamlılık düzeyinde, düşük ortalama serum NENF ($p < 0.01$) değerleri saptandı. NENF, SSS'de bolca eksprese edilir (136).

MS'de SSS'deki nöronlarda miyelin kaybı ve gliosis nedeniyle NENF sentezinin azalmış olabileceğini ve bunun düşük serum NENF düzeylerine yol açabileceğini düşünüyoruz. Yine NENF'in nöronal gelişim ve fonksiyon için kritik bir faktör olduğu bilinmektedir (140). MS hastalarında SSS'ye geçen inflamatuvar hücreler nedeniyle oligodendrositlere ve miyelin kılıfa karşı antikor gelişir. Nöron aksonlarında hasar ve olay yerinde skar oluşur. MS hastalarında azalmış NENF değerlerinden dolayı, nöronların bu inflamatuvar hücrelerin negatif etkilerinden korunamadığını ve hastalık etyopatogenezine katkıda bulunmuş olabileceğini düşünüyoruz. Daha önce BOS NENF düzeyleri ile ilgili bir çalışma yapılmadığından, BOS NENF düzeyleri ile birlikte değerlendirilmesinin daha faydalı olacağını düşünüyoruz. Çalışmamızda, MS hastalarında yaş ile serum NENF ($p<0.05$) değerleri arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon izlendi. Yaş artıkça serum NENF düzeylerinin azaldığı tespit edildi. Bu da bize MS hastalığında yaş durumunun hastalığın prognozunu etkileyen faktörlerden biri olabileceğini ve NENF seviyesinin hastalık etyopatogenezine önemli katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir.

ACY1 (N-acyl-L-amino-acid amidohydrolase, EC 3.5.1.14), açillenmiş L-amino asitlerin hidrolizini katalizleyip, onları L-amino asitlerine ve bir açıl grubuna dönüştüren, 407 amino asitlik bir zincir uzunluğuna sahip homodimerik bir metalloenzimdir (32, 142). Aynı zamanda N-asetil amino asitleri, serbest amino asit ve asetik asite hidroliz eden bir çinko-bağlama enzimidir (35, 143). Küçük hücreli akciğer kanseri ve renal hücreli karsinomda, ACY1 geninin lokalize olduğu 3p21 bölgesinin homozigositesi azalmıştır ve enzimin ekspresyonu azalmıştır (32, 33). ACY1, en çok böbrek kortikal alandaki tübül epitelinde sentezlenir (36, 37). SSS'de de güçlü bir şekilde eksprese edilir. SSS işlevinde veya gelişiminde rolü düşünülebilir, ancak henüz gösterilememiştir (35). Cook ve ark. tarafından 1993'te plasenta, dalak, uterus ve akciğerde az miktarda sentez edildiği tespit edilmiştir (35). Serum ACY1, renal transplantasyon sonrası gecikmiş greft fonksiyonlu hastalarda uzun vadeli sonuç için potansiyel prognostik yarar sağlayan yeni bir biyo belirteçtir. Gecikmiş greft fonksiyonlu hastalarda düzeyi yükseldiği saptanmıştır (144). Bu hastaların serumunda ACY1'in artmış seviyesi muhtemelen iskemi-reperfüzyonun neden olduğu tübüler hücrelerin hasarına bağlı olarak hücre içi ACY1'i seruma saldığından kaynaklanmaktadır. Bu hipotez, biyopside akut tübüler nekroz bulgusu olan hastalarda serum konsantrasyonlarının yüksek olduğu gözlemleriyle desteklenmektedir.(148).

ACY1, birçok kanser çeşidinin proliferasyonunu regüle etmede önemlidir. Yapılan bir çalışmada kolorektal kanser tanısı alan 132 hastadan, analiz için tümör dokusu ve kan numuneleri değerlendirildiğinde, kolorektal tümör dokusunda ACY1 mRNA ekspresyonunun ve ACY1 protein seviyelerinin artmış olduğu ve bu ACY1 mRNA ekspresyonunun tümör evresi

ile pozitif korelasyon içinde olduğu tespit edilmiştir. İn vitro olarak, ACY1 ekspresyonunun inhibe edilmesi, kolorektal kanser hücre çoğalmasını azalttığı ve apoptozis hızını arttırdığı saptanmıştır. Bu etki, ERK1 ve TGF- β 1 sinyalizasyonunun aktivasyonu ile ilişkili bulunmuştur. Kolorektal karsinomda up-regüle edilen ERK1/2 ve TGF- β 1'in düzeylerinin düştüğü tespit edilmiştir. Böylece, ACY1'in kolorektal karsinomda tümör ilerlemesini arttırdığını ve dolayısıyla kolorektal kanserin tanı ve tedavisinde potansiyel bir hedef olabileceği vurgulanmıştır (33, 34, 149). Kanserdeki rolü açık değildir. Alta yatan mekanizmalar hakkında çok az şey bilinmektedir. Bazı tümörlerdeki etkisi farklıdır. Küçük hücreli akciğer kanseri, renal hücreli karsinom ve karaciğer kanserinde ACY1 ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir. Bu da bu tümörlerde, ACY1'in tümör oluşumunu inhibe etmede bir rol oynadığını düşündürmektedir (149). ACY1 seviyesinde azalmanın mental retardasyon, otistik davranışlar gibi bazı psikomotor hastalıklara yol açtığı belirtilmiştir (150).

Literatürde MS hastalarında serum ve BOS ACY1 düzeyleri ile ilgili yapılan bir çalışma yoktur. Bizim çalışmamızda ise MS hastalarında kontrol grubuna göre çok yüksek anlamlılık düzeyinde, yüksek ortalama serum ACY1 ($p < 0.001$) düzeyleri tespit edildi. MS hastalarında ortalama serum ACY1 yüksekliğinin ya koruyucu bir mekanizma sonucu olarak ya da hastalarda mevcut inflamatuvar hücrelerin tetiklediği nöron hasarından dolayı, sitozolik ACY1'in hücre dışı alana geçmesi sonucu oluşmuş olabileceğini düşünüyoruz. MS'in ACY1 ile bağlantısının değerlendirilmesinde ayrıca, BOS ACY1 düzeylerinin çalışılması ve daha farklı ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu düşünüyoruz. MS hastalarında kognitif fonksiyonla birlikte ACY1 seviyelerinin bakılması da başka bir araştırma konusu olarak prognozu belirlemede katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Çalışmamızda, MS hastalarında kontrol grubuna kıyasla APRIL ($p<0.001$) ve VSNL1 ($p<0.001$) için çok yüksek anlamlılık düzeyinde; sRAGE ($p<0.01$) ve NENF ($p<0.01$) için yüksek anlamlılık düzeyinde, düşük ortalama serum değerleri saptanmıştır. Yine hastalarda kontrol grubuna göre çok yüksek anlamlılık düzeyinde, yüksek ortalama serum ACY1 ($p<0.001$) değerleri tespit edilmiştir. Bu da hastalığın etyopatogenesinde bu moleküllerin rol oynayabileceğini düşündürmektedir. MS hastalarında aktif ve inaktif dönemler arasında bu parametreler açısından anlamlı fark saptanmaması hastalığın aktif dönemini tetikleyen başka moleküllerin rol almış olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda hastalığın başlangıç yaşı, sosyoekonomik düzey, atak sıklığı, atak süresi, atak çeşidi gibi hastalığın pronozunu gösteren başka bir önemli parametre olan EDSS ile APRIL ($p>0.05$), VSNL1 ($p>0.05$), sRAGE ($p>0.05$), NENF ($p>0.05$), ACY1 ($p>0.05$) seviyeleriyle aralarında anlamlı bir korelasyon olmaması, bu moleküllerin hastalığın prognozunu gösteren parametrelerden biri olan EDSS'yi direkt olarak etkilemediğini, hastalığın başlangıcını tetiklediğini düşündürmüştür. Ayrıca, hastalığın önlenmesi, hastalığın tedavisi ya da hastalığın progresyonunun önlenmesi ile ilgili yapılacak ileri çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir. MS hastalarında atak sıklığı ile APRIL, VSNL1, sRAGE, NENF ve ACY1 düzeyleri arasında anlamlı korelasyon izlenmemesi, atak sıklığının bu moleküllerle bir ilişkisinin olmadığını, mevcut durumun aydınlatılması için yapılacak başka çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

1. Ghasemi, N., S. Razavi, and E. Nikzad, Multiple Sclerosis: Pathogenesis, Symptoms, Diagnoses and Cell-Based Therapy. *Cell Journal (Yakhteh)*, 2017. 19(1): p. 1.
2. Tullman, M.J., Overview of the epidemiology, diagnosis, and disease progression associated with multiple sclerosis. *Am J Manag Care*, 2013. 19(2 Suppl): p. S15-20.
3. Karussis, D., The diagnosis of multiple sclerosis and the various related demyelinating syndromes: a critical review. *Journal of autoimmunity*, 2014. 48: p. 134-142.
4. Wetzels, S., et al., Methylglyoxal-Derived Advanced Glycation Endproducts in Multiple Sclerosis. *International journal of molecular sciences*, 2017. 18(2): p. 421.
5. Kingwell, E., et al., Incidence and prevalence of multiple sclerosis in Europe: a systematic review. *BMC neurology*, 2013. 13(1): p. 128.
6. KUMSAR, A.K., N. Olgun, and Ö.K. KOREL, Multiple Sklerozlu Hastada Yorgunluğun Değerlendirilmesi.
7. Garg, N. and T.W. Smith, An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis. *Brain Behav*, 2015. 5(9): p. e00362.
8. ALTINTAŞ, A., Multipl Sklerozun İmmunopatogenezi ve Patolojisi. *Turkiye Klinikleri Journal of Neurology Special Topics*, 2009. 2(2): p. 1-8.
9. Smith, K.J. and W. McDonald, The pathophysiology of multiple sclerosis: the mechanisms underlying the production of symptoms and the natural history of the disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 1999. 354(1390): p. 1649-1673.
10. Cavit, B., Multipl Sklerozda Klinik Bulgular ve Semptomlar. *Turkiye Klinikleri Journal of Neurology Special Topics*, 2009. 2(2): p. 9-14.
11. Bakshi, R., Fatigue associated with multiple sclerosis: diagnosis, impact and management. *Multiple Sclerosis Journal*, 2003. 9(3): p. 219-227.
12. Miller, A.E. and P.K. Coyle, Clinical features of multiple sclerosis. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 2004. 10(6, Multiple Sclerosis): p. 38-73.
13. Sevim, S., Multipl Skleroz Atakları Üzerine Güncelleme: Tanım, Patofizyoloji, Özellikler, Taklitçiler ve Tedavi. *NÖROLOJİ*: p. 99.
14. Miller, D.H., D.T. Chard, and O. Ciccarelli, Clinically isolated syndromes. *The Lancet Neurology*, 2012. 11(2): p. 157-169.
15. Miller, D., et al., Clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis, part I: natural history, pathogenesis, diagnosis, and prognosis. *The Lancet Neurology*, 2005. 4(5): p. 281-288.
16. Okuda, D.T., et al., Radiologically isolated syndrome: 5-year risk for an initial clinical event. *PloS one*, 2014. 9(3): p. e90509.
17. Lebrun, C., et al., Cognitive function in radiologically isolated syndrome. *Multiple sclerosis*, 2010.
18. ARPACI, E., et al., Benign Multiple Sclerosis: A Retrospective Survey and Evaluation of Descriptive Clinical Criteria. *Journal of Neurological Sciences (Turkish)*, 2007. 24(4): p. 264-269.
19. Li, P., et al., Association study of a proliferation-inducing ligand, spermatogenesis associated 8, platelet-derived growth factor receptor-alpha, and POLB polymorphisms with systemic lupus erythematosus in Chinese han population. *Chinese Medical Journal*, 2016. 129(17): p. 2085.
20. Matsuda, Y., et al., A proliferation-inducing ligand sustains the proliferation of human naive (CD27(-)) B cells and mediates their differentiation into long-lived plasma cells

- in vitro via transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor and B-cell mature antigen. *Cell Immunol*, 2015. 295(2): p. 127-36.
21. Thangarajh, M., et al., Increased levels of APRIL (a proliferation-inducing ligand) mRNA in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*, 2005. 167(1-2): p. 210-4.
 22. Rao, C., et al., The Crystal Structure of A Proliferation-inducing Ligand, APRIL. *DNA*. 361: p. 370.
 23. Li, C., et al., Structural analysis of Mg²⁺ and Ca²⁺ binding, myristoylation, and dimerization of the neuronal calcium sensor and visinin-like protein 1 (VILIP-1). *J Biol Chem*, 2011. 286(8): p. 6354-66.
 24. Lin, L., et al., Functional analysis of calcium-binding EF-hand motifs of visinin-like protein-1. *Biochemical and biophysical research communications*, 2002. 296(4): p. 827-832.
 25. Bernstein, H.-G., et al., Regional and cellular distribution of neural visinin-like protein immunoreactivities (VILIP-1 and VILIP-3) in human brain. *Journal of neurocytology*, 1999. 28(8): p. 655-662.
 26. Braunewell, K.H., The visinin-like proteins VILIP-1 and VILIP-3 in Alzheimer's disease-old wine in new bottles. *Front Mol Neurosci*, 2012. 5: p. 20.
 27. Tarawneh, R., et al., Visinin-like protein-1: diagnostic and prognostic biomarker in Alzheimer disease. *Ann Neurol*, 2011. 70(2): p. 274-85.
 28. Ramasamy, R., et al., Receptor for advanced glycation end products: fundamental roles in the inflammatory response: winding the way to the pathogenesis of endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci*, 2008. 1126: p. 7-13.
 29. Goldin, A., et al., Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*, 2006. 114(6): p. 597-605.
 30. Song, J., et al., Receptor for advanced glycation end products (RAGE) and its ligands: focus on spinal cord injury. *Int J Mol Sci*, 2014. 15(8): p. 13172-91.
 31. Ohta, H., et al., Neudesin as a unique secreted protein with multi-functional roles in neural functions, energy metabolism, and tumorigenesis. *Front Mol Biosci*, 2015. 2: p. 24.
 32. Cook, R., et al., Human aminoacylase-1. Cloning, sequence, and expression analysis of a chromosome 3p21 gene inactivated in small cell lung cancer. *Journal of Biological Chemistry*, 1993. 268(23): p. 17010-17017.
 33. Shi, H., et al., Overexpression of aminoacylase 1 is associated with colorectal cancer progression. *Human pathology*, 2013. 44(6): p. 1089-1097.
 34. Yu, B., et al., Study of the expression and function of ACY1 in patients with colorectal cancer. *Oncology Letters*, 2017. 13(4): p. 2459.
 35. Sass, J.O., et al., Mutations in ACY1, the gene encoding aminoacylase 1, cause a novel inborn error of metabolism. *The American Journal of Human Genetics*, 2006. 78(3): p. 401-409.
 36. Lindner, H.A., M. Täfler-Naumann, and K.-H. Röhm, N-acetyl amino acid utilization by kidney aminoacylase-1. *Biochimie*, 2008. 90(5): p. 773-780.
 37. Lindner, H.A., et al., Roles of dimerization domain residues in binding and catalysis by aminoacylase-1. *Biochemistry*, 2005. 44(48): p. 15645-15651.
 38. Rajda, C., et al., Excitotoxins, Mitochondrial and Redox Disturbances in Multiple Sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017. 18(2): p. 353.
 39. Batchelor, T., et al., Multiple sclerosis is a complex and heterogeneous, most likely autoimmune, demyelinating disease of the central nervous system (CNS). Although a number of histological classification systems for CNS lesions have been used by different groups in recent years, no uniform classification exists. In this paper, we

- propose a simple and unifying classification of MS lesions incorporating many elements of. *Acta Neuropathologica*, 2017. 133(1): p. 149-151.
40. Thangarajh, M., et al., Increased levels of APRIL (a proliferation-inducing ligand) mRNA in multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology*, 2005. 167(1): p. 210-214.
 41. Hempel, S., et al., Modifiable risk factors in the progression of multiple sclerosis: A systematic review of the epidemiology and treatment. 2015.
 42. Vural, G., et al., Dynamic Thiol-Disulphide Homeostasis in Patients with Multiple Sclerosis. *World Journal of Neuroscience*, 2016. 6(03): p. 214.
 43. Hickey, W.F., The pathology of multiple sclerosis: a historical perspective. *Journal of neuroimmunology*, 1999. 98(1): p. 37-44.
 44. Leray, E., et al., Epidemiology of multiple sclerosis. *Revue neurologique*, 2016. 172(1): p. 3-13.
 45. Pugliatti, M., et al., The epidemiology of multiple sclerosis in Europe. *European journal of Neurology*, 2006. 13(7): p. 700-722.
 46. Çelik, Y., et al., Prevalence of multiple sclerosis in the metropolitan area of Edirne city, Turkey. *Balkan Medical Journal*, 2011. 2011(2).
 47. Consortium, I.M.S.G. and W.T.C.C.C. 2, Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature*, 2011. 476(7359): p. 214-219.
 48. Correale, J., M.F. Farez, and M.I. Gaitán, Environmental factors influencing multiple sclerosis in Latin America. *Multiple Sclerosis Journal–Experimental, Translational and Clinical*, 2017. 3(2): p. 2055217317715049.
 49. Lassmann, H., W. Brück, and C.F. Lucchinetti, The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. *Brain pathology*, 2007. 17(2): p. 210-218.
 50. Fox, E.J., Immunopathology of multiple sclerosis. *Neurology*, 2004. 63(12 suppl 6): p. S3-S7.
 51. Sie, C., T. Korn, and M. Mitsdoerffer, Th17 cells in central nervous system autoimmunity. *Experimental neurology*, 2014. 262: p. 18-27.
 52. Chari, D.M., Remyelination in multiple sclerosis. *International review of neurobiology*, 2007. 79: p. 589-620.
 53. Coman, I., et al., Nodal, paranodal and juxtaparanodal axonal proteins during demyelination and remyelination in multiple sclerosis. *Brain*, 2006. 129(12): p. 3186-3195.
 54. Popescu, B.F.G., I. Pirko, and C.F. Lucchinetti, Pathology of multiple sclerosis: where do we stand? *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 2013. 19(4, Multiple Sclerosis): p. 901-921.
 55. Sinha, S., F.R. Itani, and N.J. Karandikar, Immune regulation of multiple sclerosis by CD8+ T cells. *Immunologic research*, 2014. 59(1-3): p. 254-265.
 56. KANSU, T., Multipl Skleroz'da Nöro-Oftalmolojik Belirtiler. *Türkiye Klinikleri Journal of Neurology*, 2004. 2(3): p. 183-187.
 57. Gilroy, J., *Basic Neurology Çeviri ed: Rana Karabudak. 3. baskı. Ankara: Güneş Yayınevi*, 2002: p. 199-219.
 58. Ruchkin, D.S., et al., Event-related brain potential evidence for a verbal working memory deficit in multiple sclerosis. *Brain*, 1994. 117(2): p. 289-305.
 59. Türkbay, T., et al., Multiple sklerozlu hastalarda yorgunluk ve yorgunluğun etkisinin değerlendirilmesi. *Türk Nöroloji Dergisi*, 2004. 10(6): p. 515-520.
 60. Hurwitz, B.J., The diagnosis of multiple sclerosis and the clinical subtypes. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 2009. 12(4): p. 226.
 61. Goldenberg, M.M., Multiple sclerosis review. *Pharmacy and Therapeutics*, 2012. 37(3): p. 175.

62. Azevedo, C.J., et al., Early CNS neurodegeneration in radiologically isolated syndrome. *Neurology-Neuroimmunology Neuroinflammation*, 2015. 2(3): p. e102.
63. Gelfand, J.M., Multiple sclerosis: diagnosis, differential diagnosis, and clinical presentation. *Handb Clin Neurol*, 2014. 122: p. 269-90.
64. Link, H. and Y.-M. Huang, Oligoclonal bands in multiple sclerosis cerebrospinal fluid: an update on methodology and clinical usefulness. *Journal of neuroimmunology*, 2006. 180(1): p. 17-28.
65. Tomioka, R. and M. Matsui, Biomarkers for multiple sclerosis. *Internal Medicine*, 2014. 53(5): p. 361-365.
66. Schumacher, G.A., et al., Problems of experimental trials of therapy in multiple sclerosis: report by the panel on the evaluation of experimental trials of therapy in multiple sclerosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1965. 122(1): p. 552-568.
67. McDonald, W.I., et al., Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of neurology*, 2001. 50(1): p. 121-127.
68. Polman, C.H., et al., Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Annals of neurology*, 2011. 69(2): p. 292-302.
69. Swanton, J.K., et al., MRI criteria for multiple sclerosis in patients presenting with clinically isolated syndromes: a multicentre retrospective study. *The Lancet Neurology*, 2007. 6(8): p. 677-686.
70. Paolino, E., et al., A prospective study on the predictive value of CSF oligoclonal bands and MRI in acute isolated neurological syndromes for subsequent progression to multiple sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 1996. 60(5): p. 572-575.
71. Amato, M. and G. Ponziani, A prospective study on the prognosis of multiple sclerosis. *Neurological Sciences*, 2000. 4(21; SUPP/2): p. S831-S838.
72. AYKUT, C., S. AKTAN, and Ş. ÖZGÜN, Multipl Skleroz: Uyarılmış Potansiyeller ve IgG Oligoklonal Band Çalışması ile Klinik Sınıflaması. *Turkiye Klinikleri Journal of Case Reports*, 1991. 9(4): p. 275-280.
73. Kothari, R., et al., A Comprehensive Review on Methodologies Employed for Visual Evoked Potentials. *Scientifica (Cairo)*, 2016. 2016: p. 9852194.
74. Creel, D.J., Visually evoked potentials. 2012.
75. İDİMAN, F., Multipl Skleroz'da Uyarılmış Potansiyeller. *Turkiye Klinikleri Journal of Neurology*, 2004. 2(3): p. 197-202.
76. Celesia, G.G. and M.G. Brigell, Recommended standards for pattern electroretinograms and visual evoked potentials. *The International Federation of Clinical Neurophysiology. Electroencephalography and clinical neurophysiology. Supplement*, 1999. 52: p. 53.
77. Tokgöz, O.S., et al., Multipl sklerozlu hastalarda kan diurnal melatonin seviyesi ile görsel uyarılmış potansiyel latans değişiklikleri ve kan lipid profili ilişkisi. *Genel Tıp Dergisi*, 2007. 17: p. 139-142.
78. Rot, U., A.H. Ledinek, and S.Š. Jazbec, Clinical, magnetic resonance imaging, cerebrospinal fluid and electrophysiological characteristics of the earliest multiple sclerosis. *Clinical neurology and neurosurgery*, 2008. 110(3): p. 233-238.
79. Robinson, K. and P. Rudge, Abnormalities of the auditory evoked potentials in patients with multiple sclerosis. *Brain: a journal of neurology*, 1977. 100: p. 19-40.
80. Orhan, A., et al., Multiple Sklerozis' li Olgularda BAEP ve MRI Bulgularının Karşılaştırılması+. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 2006. 13(1).

81. KIYLIOĞLU, N., Multipl Skleroz Tanısında Elektrofizyolojik Yöntemler. *Turkiye Klinikleri Journal of Neurology Special Topics*, 2009. 2(2): p. 58-66.
82. Magistris, M.R., et al., A clinical study of motor evoked potentials using a triple stimulation technique. *Brain*, 1999. 122(2): p. 265-279.
83. Facchetti, D., et al., Motor evoked potentials and disability in secondary progressive multiple sclerosis. *Canadian Journal of Neurological Sciences/Journal Canadien des Sciences Neurologiques*, 1997. 24(04): p. 332-337.
84. Rolak, L.A. and J.O. Fleming, The differential diagnosis of multiple sclerosis. *The neurologist*, 2007. 13(2): p. 57-72.
85. ÖZAKBAŞ, S., Multipl Skleroz'da Yaşam Kalitesi Ölçekleri. *Turkiye Klinikleri Journal of Neurology*, 2004. 2(3): p. 249-253.
86. Brex, P.A., et al., A longitudinal study of abnormalities on MRI and disability from multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 2002. 346(3): p. 158-164.
87. ÖZAKBAŞ, S., Multipl Sklerozda Semptomatik Tedavi. *Archives of Neuropsychiatry*, 2011. 48(2): p. 83-9.
88. Lublin, F.D., M. Baier, and G. Cutter, Effect of relapses on development of residual deficit in multiple sclerosis. *Neurology*, 2003. 61(11): p. 1528-1532.
89. Aysun, Ü. and E. Ufuk, Multipl Sklerozda Atak Tedavisi. *Turkiye Klinikleri Journal of Neurology Special Topics*, 2009. 2(2): p. 75-80.
90. Tavazzi, E., M. Rovaris, and L. La Mantia, Drug therapy for multiple sclerosis. *Canadian Medical Association Journal*, 2014. 186(11): p. 833-840.
91. Goodman, A.D., et al., Sustained-release oral fampridine in multiple sclerosis: a randomised, double-blind, controlled trial. *The Lancet*, 2009. 373(9665): p. 732-738.
92. O'riordan, J., et al., Do alpha-blockers have a role in lower urinary tract dysfunction in multiple sclerosis? *The Journal of urology*, 1995. 153(4): p. 1114-1116.
93. Nicholas, R.S., et al., Anticholinergics for urinary symptoms in multiple sclerosis. *The Cochrane Library*, 2015.
94. Putzki, N., et al., Multiple sclerosis associated fatigue during natalizumab treatment. *Journal of the neurological sciences*, 2009. 285(1): p. 109-113.
95. Metz, L., et al., The effect of immunomodulatory treatment on multiple sclerosis fatigue. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 2004. 75(7): p. 1045-1047.
96. Patti, F., et al., Effects of immunomodulatory treatment with subcutaneous interferon beta-1a on cognitive decline in mildly disabled patients with relapsing—remitting multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 2010. 16(1): p. 68-77.
97. Fischer, J.S., et al., Neuropsychological effects of interferon β -1a in relapsing multiple sclerosis. *Annals of neurology*, 2000. 48(6): p. 885-892.
98. Neuhaus, O., et al., Mechanisms of action of glatiramer acetate in multiple sclerosis. *Neurology*, 2001. 56(6): p. 702-708.
99. Jacobs, L. and C.M. Brownschidle, Appropriate use of interferon beta-1a in multiple sclerosis. *BioDrugs*, 1999. 11(3): p. 155-163.
100. Kappos, L., et al., A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 2010. 362(5): p. 387-401.
101. Cohen, J.A., et al., Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 2010. 362(5): p. 402-415.
102. Linker, R.A. and R. Gold, Dimethyl fumarate for treatment of multiple sclerosis: mechanism of action, effectiveness, and side effects. *Current neurology and neuroscience reports*, 2013. 13(11): p. 1-7.
103. Gold, R., et al., Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 2012. 367(12): p. 1098-1107.

104. Fox, R.J., et al., Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 or glatiramer in multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 2012. 367(12): p. 1087-1097.
105. Taşkapılıoğlu, Ö., et al., Multipl Skleroz Tedavisinde Mitoksantron Kullanımı: Bir Kliniğin Deneyimi. *Turkish Journal of Neurology/Turk Noroloji Dergisi*, 2012. 18(2).
106. Garg, N. and T.W. Smith, An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis. *Brain and behavior*, 2015. 5(9).
107. Neuhaus, O., B.C. Kieseier, and H.-P. Hartung, Immunosuppressive agents in multiple sclerosis. *Neurotherapeutics*, 2007. 4(4): p. 654-660.
108. Stankiewicz, J.M., et al., Role of immunosuppressive therapy for the treatment of multiple sclerosis. *Neurotherapeutics*, 2013. 10(1): p. 77-88.
109. Muraro, P.A. and B. Bielekova, Emerging therapies for multiple sclerosis. *Neurotherapeutics*, 2007. 4(4): p. 676-692.
110. Hahne, M., et al., APRIL, a new ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates tumor cell growth. *Journal of Experimental Medicine*, 1998. 188(6): p. 1185-1190.
111. Schneider, P., *The Beautiful Structures of BAFF, APRIL, and Their Receptors, in BlyS ligands and receptors*. 2009, Springer. p. 1-18.
112. Thangarajh, M., et al., A Proliferation-inducing Ligand (APRIL) is Expressed by Astrocytes and is Increased in Multiple Sclerosis. *Scandinavian journal of immunology*, 2007. 65(1): p. 92-98.
113. Ware, C., APRIL and BAFF Connect Autoimmunity and Cancer.(2000). *J. Exp. Med.* 192(11): p. F35-37.
114. Liu, X.-g. and M. Hou. *Immune thrombocytopenia and B-cell-activating factor/a proliferation-inducing ligand*. in *Seminars in hematology*. 2013. Elsevier.
115. Medema, J., et al., The uncertain glory of APRIL. *Cell Death & Differentiation*, 2003. 10(10): p. 1121-1125.
116. Mhawech-Fauceglia, P., et al., The source of APRIL up-regulation in human solid tumor lesions. *Journal of leukocyte biology*, 2006. 80(4): p. 697-704.
117. Lin, L., et al., The calcium sensor protein visinin-like protein-1 modulates the surface expression and agonist sensitivity of the $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor. *Journal of Biological Chemistry*, 2002. 277(44): p. 41872-41878.
118. Polymeropoulos, M.H., et al., Sequence characterization and genetic mapping of the human VSNL1 gene, a homologue of the rat visinin-like peptide RNVP1. *Genomics*, 1995. 29(1): p. 273-275.
119. Braunewell, K., et al., Association of VSNL1 with schizophrenia, frontal cortical function, and biological significance for its gene product as a modulator of cAMP levels and neuronal morphology. *Translational psychiatry*, 2011. 1(7): p. e22.
120. Stejskal, D., et al., Determination of serum visinin like protein-1 and its potential for the diagnosis of brain injury due to the stroke—a pilot study. *Biomedical Papers*, 2011. 155(3): p. 263-268.
121. Gonzalez Guerrico, A.M., et al., Visinin-like protein-1 is a potent inhibitor of cell adhesion and migration in squamous carcinoma cells. *Oncogene*, 2005. 24(14): p. 2307-16.
122. Babić Leko, M., et al., Predictive value of cerebrospinal fluid visinin-like protein-1 levels for Alzheimer's disease early detection and differential diagnosis in patients with mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2016. 50(3): p. 765-778.
123. Groblewska, M., et al., The role of visinin-like protein-1 in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2015. 47(1): p. 17-32.

124. Lin, C.-W., et al., VSNL1 co-expression networks in aging include calcium signaling, synaptic plasticity, and Alzheimer's disease pathways. *Frontiers in psychiatry*, 2015. 6.
125. Dai, F.F., et al., The neuronal Ca²⁺ sensor protein visinin-like protein-1 is expressed in pancreatic islets and regulates insulin secretion. *Journal of biological chemistry*, 2006. 281(31): p. 21942-21953.
126. Ma, W.-Q., et al., Association of RAGE gene Gly82Ser polymorphism with coronary artery disease and ischemic stroke: A systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 2016. 95(49): p. e5593.
127. Chuah, Y.K., et al., Receptor for advanced glycation end products and its involvement in inflammatory diseases. *International journal of inflammation*, 2013. 2013.
128. Piras, S., et al., RAGE expression and ROS generation in neurons: Differentiation versus damage. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016. 2016.
129. Jensen, L.J., A. Flyvbjerg, and M. Bjerre, Soluble receptor for advanced glycation end product: a biomarker for acute coronary syndrome. *BioMed research international*, 2015. 2015.
130. Byun, K., et al., Advanced glycation end-products produced systemically and by macrophages: A common contributor to inflammation and degenerative diseases. *Pharmacol Ther*, 2017.
131. Kay, A.M., C.L. Simpson, and J.A. Stewart, The role of AGE/RAGE signaling in diabetes-mediated vascular calcification. *Journal of Diabetes Research*, 2016. 2016.
132. Sternberg, Z., et al., Soluble receptor for advanced glycation end products in multiple sclerosis: a potential marker of disease severity. *Multiple Sclerosis Journal*, 2008. 14(6): p. 759-763.
133. Selejan, S.-R., et al., Suppressed MMP-9 Activity in Myocardial Infarction-Related Cardiogenic Shock Implies Diminished RAGE Degradation. *Shock*, 2017.
134. Prasad, K., et al., AGEs/sRAGE, a novel risk factor in the pathogenesis of end-stage renal disease. *Molecular and cellular biochemistry*, 2016. 423(1-2): p. 105-114.
135. Singhal, S., et al., Human soluble receptor for advanced glycation end products and tumor necrosis factor- α as gingival crevicular fluid and serum markers of inflammation in chronic periodontitis and type 2 diabetes. *Journal of Oral Science*, 2016. 58(4): p. 547-553.
136. Yamagishi, S.-i. and T. Matsui, Role of receptor for advanced glycation end products (RAGE) in liver disease. *European journal of medical research*, 2015. 20(1): p. 15.
137. Kimura, I., et al., Neurotrophic effects of neudesin in the central nervous system. *Frontiers in neuroscience*, 2013. 7: p. 111.
138. Kimura, I., et al., Neudesin, a novel secreted protein with a unique primary structure and neurotrophic activity. *Journal of neuroscience research*, 2005. 79(3): p. 287-294.
139. Han, K.-H., et al., The functional and structural characterization of a novel oncogene GIG47 involved in the breast tumorigenesis. *BMC cancer*, 2012. 12(1): p. 274.
140. Petersen, S., et al., Nonclassical progesterone signalling molecules in the nervous system. *Journal of neuroendocrinology*, 2013. 25(11): p. 991-1001.
141. Ohta, H., Role of the secretory protein neudesin in energy metabolism. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*, 2016. 5(3): p. 229-233.
142. Ohta, H., et al., Deletion of the neurotrophic factor neudesin prevents diet-induced obesity by increased sympathetic activity. *Scientific reports*, 2015. 5: p. 10049.
143. Mitta, M., et al., The primary structure of porcine aminoacylase 1 deduced from cDNA sequence. *The Journal of Biochemistry*, 1992. 112(6): p. 737-742.
144. Sommer, A., et al., The molecular basis of aminoacylase 1 deficiency. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2011. 1812(6): p. 685-690.

145. Smith, M.P.W., et al., Serum aminoacylase-1 is a novel biomarker with potential prognostic utility for long-term outcome in patients with delayed graft function following renal transplantation. *Kidney international*, 2013. 84(6): p. 1214-1225.
146. Goldenberg, M.M., Multiple sclerosis review. *PT*, 2012. 37(3): p. 175-84.
147. Samy, E., et al., Targeting BAFF and APRIL in systemic lupus erythematosus and other antibody-associated diseases. *International Reviews of Immunology*, 2017. 36(1): p. 3-19.
148. Neves, M. and J.D. Alves, Factors implicated in the generation and persistence of long-lived plasma cell-mediated autoimmunity. *Autoimmunity reviews*, 2011. 10(7): p. 375-382.
149. Tarawneh, R., et al., CSF VILIP-1 predicts rates of cognitive decline in early Alzheimer disease. *Neurology*, 2012. 78(10): p. 709-719.
150. Tylki-Szymanska, A., et al., Aminoacylase 1 deficiency associated with autistic behavior. *Journal of inherited metabolic disease*, 2010: p. 1-4.



EKLER

Ek-1 Hasta Veri Formu

Multipl skleroz hastalarında, nörolojik markerler olan Aminoacylase-1, Human Neudesin, Visinin like protein 1, solubl Receptor for advanced glycation end products (sRAGE), APRIL(a proliferation-Inducing Ligand) seviyelerinin değerlendirilmesi

Hasta Bilgi Formu

Hasta Adı–Soyadı:

Yaşı:

Cinsiyeti:

Sigara kullanım öyküsü:

Ailede hst. öyküsü:

Tanının ne zaman konulduğu:

Atak sıklığı:

Atak süresi:

Optik nörit geçirme öyküsü:

Kullandığı ilaçlar:

TA:

BMI veya (Boy/kilo):

EDSS:

Telefon:

Ek-2 EDSS

EDSS (EXPANDED DISABILITY STATUS SCALE)

GENİŞLETİLMİŞ ÖZÜRLÜLÜK DURUMU DERECESESİ

- 0: Normal nörolojik inceleme (fonksiyonel sistemlerin [FS] tümünde 0 derece; serebral derece 1 ise kabul edilebilir)
- 0.5: Özürlülük yok, bir FS'de minimal bulgu (örn. 1. derece – serebral 1.derece hariç)
- 1.0: Özürlülük yok, birden fazla FS'de minimal bulgu (1. dereceden fazla – serebral 1.derece hariç)
- 2.0: Bir FS'de minimal özürlülük (bir FS 2. Basamak; diğerleri 0 ya da 1).
- 2.5: İki FS'de minimal özürlülük (iki FS 2. Derece, diğerleri 0 ya da 1).
- 3.0: Bir FS'de orta derecede özürlülük (bir FS 3. derece, diğerleri 0 ya da 1); ya da 3 veya 4 FS'de hafif özürlülük (3/4 FS 2. Derece, diğerleri 0 ya da 1), tam ambulatuvar hasta.
- 3.5: Tam ambulatuvar hasta, ancak bir FS'de orta derecede özürlülük (bir adet 3. derece) ve bir ya da iki FS 2. derece veya beş FS 2. derecede (diğerleri 0 ya da 1)
- 4.0: Yardımsız tam ambulatuvar hasta, bir FS'de 4. derece ağır özürlülük (diğerleri 0 veya 1) olmasına karşın günde 12 saat ve üzerinde kendine yetebilen hasta, ya da önceki basamakların sınırlarını aşacak şekilde, düşük derecelerin kombinasyonu. Yardımsız ve dinlenmeden 500 metre civarında yürüyebilir.
- 4.5: Günün çoğuna yakın bir bölümünde yardımsız tam ambulatuvar hasta, tam gün çalışabilir, bunun dışında aktivitesinin tam olmasında bazı kısıtlıklar olabilir veya minimal yardıma ihtiyaç duyabilir, göreceli olarak bir FS'de 4. derece görece olarak ağır özürlülük (diğerleri 0 veya 1), ya da önceki basamakların sınırlarını aşacak şekilde, düşük derecelerin kombinasyonu. Yardımsız ya da dinlenmeden 300 metre yürüyebilir.
- 5.0: Yardımsız ya da dinlenmeden yaklaşık 200 metre yürüyebilir; özürlülüğü günlük aktivitelerini tam olarak yürütmesine engel olacak kadar ağırdır (özel koşul olmaksızın tam gün çalışmak gibi). (Genel olarak FS eşdeğeri tek başına bir FS'de derece 5, diğerleri 0 veya 1; ya da daha düşük derecelerin 4. basamaktakini aşan kombinasyonları)
- 5.5: Yardımsız ya da dinlenmeksizin yaklaşık 100 metre yürüyebilir; özürlülük 23 günlük aktiviteleri engelleyecek kadar ağırdır. (Genel olarak FS eşdeğerleri bir FS' de tek başına 5. derece, diğerleri 0 veya 1; ya da daha düşük derecelerin 4. basamaktakini aşan kombinasyonları)
- 6.0: Yaklaşık 100 metre dinlenerek veya dinlenmeden yürüyebilmek için aralıklı ya da tek taraflı sabit destek (koltuk değneği, baston vb.) gerekir. (FS eşdeğerleri ikiden çok FS'de 3 ve daha fazla dereceden bozukluk kombinasyonları)

- 6.5: Dinlenmeden 20 metre yürüyebilmek için sabit iki taraflı destek (koltuk değneği, baston v.b.) gerekir. (FS eşdeğerleri ikiden çok FS'de 3 ve daha fazla dereceden bozukluk kombinasyonları)
- 7.0: Yardımla bile 5 metrenin ötesinde yürüyemez, esas olarak tekerlekli sandalyeye bağımlıdır; tekerlekleri kendisi çevirir ve kendisi tekerlekli sandalyeye geçebilir; yaklaşık günde 12 saat ya da daha fazla tekerlekli sandalyede geçirebilir. (Genel olarak FS eşdeğerleri bir FS'de 4. derece ya da daha fazla; nadiren piramidal 5. derece)
- 7.5: Birkaç adımdan fazlasını atamaz; tekerlekli sandalyeye bağımlıdır; tekerlekli sandalyeye geçişte yardım gerekebilir; tekerlekli sandalyeyi kendisi çevirir ancak standart tekerlekli sandalyede tüm günü geçiremez, motorlu tekerlekli sandalye gerekebilir. (Genel olarak FS eşdeğerleri 4. Derece bozukluk içeren birden fazla FS)
- 8.0: Esas olarak yatağa ya da sandalyeye bağımlı, ya da tekerlekli sandalyede addddmbule olabilir, günün çoğunu yatak dışında geçirebilir; birçok işini kendisi görebilir. (FS eşdeğerleri genellikle çeşitli sistemlerde 4 ve üstü dereceleri içerir)
- 8.5: Günün çoğunda yatağa bağımlıdır; kolunu/kollarını bir dereceye kadar etkili olarak 5kullanabilir; bazı işlerini kendisi görebilir. (FS eşdeğerleri genellikle çeşitli sistemlerde 4 ve üstü dereceleri içerir)
- 9.0: Ümitsizce yatağa bağlı hasta; iletişim kurabilir ve yiyebilir. (FS eşdeğerleri çoğu 4. dderece ve üstünde olan kombinasyonlar)
- 9.5: Tümüyle ümitsiz, yatağa bağlı hasta; etkin iletişim kuramaz ya da yutma-yeme bozulmuştur. (FS eşdeğerleri neredeyse tümü 4. derece üstünde olan kombinasyonlardır)
- 10.0: MS'e bağlı ölüm

ÖZGEÇMİŞ

20.03.1986 tarihinde Şanlıurfa'nın Suruç ilçesinde doğdum. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimimi Şanlıurfa'da tamamladım. 2004 yılında Suruç Anadolu Lisesi'nden mezun oldum. 2005 yılında Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni kazandım ve 2011 yılında mezun olduktan sonra Suruç Devlet Hastanesi'nde pratisyen hekim olarak işe başladım. 1 ay sonra Şanlıurfa ilinin Birecik ilçesine bağlı 027 nolu Babahat ASM'de aile hekimi olarak göreve başladım. Burada 1 sene çalıştıktan sonra, Suruç 01 nolu ASM'de Aile hekimi olarak görev yaptım. 2013 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavı ile yerleştirildiğim Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda asistan hekim olarak göreve başladım.

