

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MULTİPL SKLEROZ (MS) HASTALIĞININ TEDAVİSİNDE
KULLANILAN FİNGOLİMOD BENZERİ İLAÇLARIN
BİYOETKİNLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

GURBET ÇELİK TURGUT

DENİZLİ, OCAK - 2017

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**MULTİPL SKLEROZ (MS) HASTALIĞININ TEDAVİSİNDE
KULLANILAN FİNGOLİMOD BENZERİ İLAÇLARIN
BİYOETKİNLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

GURBET ÇELİK TURGUT

DENİZLİ, OCAK - 2017

KABUL VE ONAY SAYFASI

GURBET ÇELİK TURGUT tarafından hazırlanan “MULTIPL SKLEROZ (MS) HASTALIĞININ TEDAVİSİNDE KULLANILAN FİGOLİMOD BENZERİ İLAÇLARIN BİYOETKİNLİKLERİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 20.01.2017 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

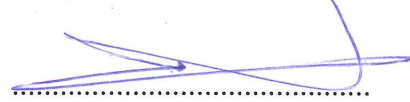
Danışman
PROF. DR. ALAATTİN ŞEN



Üye
PROF. DR. ORHAN ADALI



Üye
PROF. DR. YILMAZ YILDIRIR



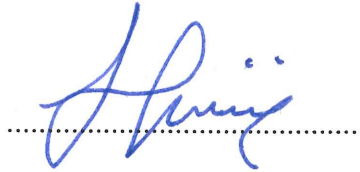
Üye
PROF. DR. NAZİME MERCAN DOĞAN



Üye
DOÇ. DR. YAVUZ DODURGA



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 25.01.2017 tarih ve ..06.1.22... sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof. Dr. UĞUR YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**Bu tez çalışması TÜBİTAK VE PAÜ-BAP tarafından sırasıyla
113Z141 ve 2014FBE028 nolu projeler ile desteklenmiştir.**

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.



GURBET ÇELİK TURGUT

ÖZET

**MULTİPL SKLEROZ (MS) HASTALIĞININ TEDAVİSİNDE
KULLANILAN FİNGOLİMOD BENZERİ İLAÇLARIN
BİYOETKİNLİKLERİNİN İNCELENMESİ
DOKTORA TEZİ
GURBET ÇELİK TURGUT
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. ALAATTİN ŞEN)

DENİZLİ, OCAK - 2017

Tez kapsamında, mevcut ilaçlara göre daha fazla etkinlik gösterebilecek ve yan etkileri daha az olan Fingolimod (FTY720) benzeri yeni maddelerin sentezlenmesi ve bunların MS patofizyolojisiyle ilişkili ve G protein bağlı reseptör (GPCR) genleri üzerine etkinlikleri araştırıldı. Bileşik serilerinin teorik çalışmalar (docking) ile muhtemel etkinlikleri belirlendi. Daha sonra uygun bileşiklerin (F1-12h ve F2-9) sentezleri gerçekleştirilerek spektroskopik yöntemlerle yapıları aydınlatıldı. Biyoetkinlik ve bileşiklerin etki mekanizması çalışmaları insan nöroblastom hücre hattında (SK-N-SH) gerçekleştirildi. FTY720 ve sentezlenen türevlerinin toksik olmayan dozları (EC05 ve EC10) sitotoksosite çalışmaları ile belirlendi, bu dozlar uygulanarak MS ve GPCR genleri üzerine etkileri qRT-PCR yöntemi ile saptandı. cAMP düzeyi ve cAMP cevap elementi (CRE) geni üzerine etkisi lusiferaz aktivitesi ile belirlendi. FTY720'nin EC05 dozunda 19, EC10 dozunda 52 gen, F1-12h'm EC05 dozunda 18, EC10 dozunda 48 gen, F2-9'un EC05 dozunda 4, EC10 dozunda 27 genin ifade düzeyi kontrole göre anlamlı farklılıklar gösterdi. cAMP düzeyi ve CRE gen aktivitesinde kontrole göre artış gözlemlendi. Yapılan moleküler ve analitik çalışmalar sonucunda FTY720, F1-12h ve F2-9 bileşiklerinin miyelinizasyona ve hücre adezyonuna katkısı, immünomodülatör ve immünsupresif özelliklere sahip olduğu belirlendi. Bu üç bileşiğin hücre içi cAMP miktarını artırarak etki gösterdiği saptandı. Ayrıca FTY720 ve F1-12h bileşiğinin anti-vazodilatör ve analjezik etkileri belirlendi. Sonuç olarak MS tedavisinde kullanılan FTY720'ye alternatif olabilecek F1-12h bileşiği halen tedavisi bulunmayan MS hastalığı için yüksek potansiyelli ve önemli bir ilaç etmeni olduğunu kuvvetle desteklemektedir.

ANAHTAR KELİMELELER: Multipl skleroz, FTY720, F1-12h, F2-9, GPCR, cAMP

ABSTRACT

INVESTIGATING THE BIOACTIVITY OF FINGOLIMOD-LIKE DRUGS USED IN THE TREATMENT OF MULTIPLE SCLEROSIS (MS)

Ph.D THESIS

GURBET ÇELİK TURGUT

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BİOLOGY

(SUPERVISOR: PROF. DR. ALAATTİN ŞEN)

DENİZLİ, JANUARY 2017

In this thesis, new Fingolimod like derivatives which are more active than the existing drugs, with fewer side effects synthesized and their activity on MS pathophysiology and G protein-coupled receptor (GPCR) genes were investigated. Possible activities of the designed compound have been determined by theoretical studies (docking). Then, the synthesis of the compounds (F1-12h and F2-9) was done and structures of these compounds was verified by performing spectroscopic methods. Studies of the mechanism of action of compounds and bio-activity have been carried out in the human neuroblastoma cell line (SK-N-SH). Non-toxic doses (EC05 and EC10) of FTY720 and its synthesized derivatives were determined by cytotoxicity studies and the effects on MS and GPCR genes were determined by qRT-PCR method. cAMP level and the effect on the cAMP response element (CRE) gene was determined by luciferase activity, and the biological activity and the mechanism of action of the compounds were investigated in this way. Expression level of 19 genes at EC05 dose, 52 genes at EC10 doses in FTY720; 18 genes at EC05 dose, 48 genes at EC10 doses in F1-12h; 4 genes at EC05 dose, 27 genes at EC10 doses in F2-9 significant differences were observed when compared with control. cAMP level and CRE gene activity increased compared to control. As a result of molecular and analytical studies, it was determined that FTY720, F1-12h and F2-9 compounds have contributions to myelination and cell adhesion, immunomodulatory and immunosuppressive properties. It was determined that these three compounds acted by increasing intracellular cAMP levels. In addition, anti-vasodilator and analgesic effects of FTY720 and F1-12h compound were determined. As a result, F1-12h compounds, which may be an alternative to FTY720 used in the treatment of MS, strongly support that it is a potent and important drug agent for MS which are currently untreated.

KEYWORDS: Multiple sclerosis, FTY720, F1-12h, F2-9, GPCR, cAMP

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	viii
SEMBOL LİSTESİ.....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Multipl Skleroz'un Tanımlanması.....	3
2.2 Multipl Skleroz'un Prevelansı	4
2.3 Multipl Skleroz'un Etiyolojisi	5
2.4 Multipl Skleroz Tedavisinde Kullanılan FDA Onaylı İlaçlar	7
2.5 Multipl Skleroz Tedavisinde Kullanılan İlaçların Güvenirliği.....	16
2.6 G Proteine Bağlı Reseptörler (GPCR)	17
2.7 Tezin Amacı	19
3. MATERYAL VE METHOD	21
3.1 Materyal	21
3.1.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar.....	21
3.2 Method	21
3.2.1 'DOCK' Çalışmaları ve FTY720 Türevi Bileşiklerin Sentezi.....	21
3.2.2 Hücre Kültürü Çalışmaları.....	24
3.2.2.1 Besiyeri Hazırlanışı	24
3.2.2.2 Hücrelerin Büyütülmesi	25
3.2.2.3 Hücrelerin Pasajı	25
3.2.2.4 SK-N-SH Hücrelerinde Sitotoksosite Çalışmaları.....	25
3.2.2.5 SK-N-SH Hücre Hattına Bileşiklerin Uygulanması	26
3.2.2.6 RNA İzolasyonu.....	27
3.2.2.7 Total RNA'nın Agaroz Jel Elektrofrezisi İle Görüntülenmesi.....	27
3.2.2.8 cDNA sentezi.....	28
3.2.2.9 Primer Dizaynı	28
3.2.2.10 Kantitatif Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR)	29
3.2.2.11 Hücre içi cAMP Düzeyinin Belirlenmesi	31
3.2.2.12 Lusiferaz Deneyi.....	32
3.2.2.12.1 Transfeksiyon	33
3.2.2.12.2 Lusiferaz Aktivitesinin Ölçülmesi	33
3.2.2.13 İstatiksel Analiz	34
4. SONUÇLAR.....	35
4.1 FTY720 ve Türevi Bileşiklerin SK-N-SH Hücre Canlılığına Etkisi ..	35
4.2 RNA İzolasyonu Sonuçları.....	37
4.3 RT-PCR Analiz Sonuçları.....	38
4.3.1 MS Dizin Analizleri	38
4.3.1.1 SK-N-SH Hücrelerinde MS dizin analizleri.....	39
4.3.2 GPCR Dizin Analizleri	53

4.3.2.1 SK-N-SH Hücrelerinde GPCR Dizin Analizleri	54
4.3.3 MS ve GPCR Dizin Analizleri.....	63
4.3.4 Hücre cAMP Düzeylerinin Belirlenmesi.....	67
4.3.5 FTY720 ve Türevlerinin CRE Geni Üzerine Etkisi	68
5. TARTIŞMA	70
6. SONUÇ	96
7. KAYNAKLAR	97
8. EKLER	140
9. ÖZGEÇMİŞ.....	195

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1. 2013 yılı küresel Multipl Skleroz prevalansı (Browne 2014)	5
Şekil 2. FTY720 ve Myriocin'in kimyasal yapısı	12
Şekil 3. NİMS immunopatolojisi ve ilaçların etki mekanizmaları (Barten ve diğ. 2010'dan alınmıştır)	16
Şekil 4. Etkinlik ve güvenilirliğine göre Multipl Skleroz için kullanılan ilaçların sınıflandırılması (Coles 2005).	17
Şekil 5. G proteinin aktivasyonu	18
Şekil 6. F1-12h yapısı	22
Şekil 7. F2-9'un yapısı	23
Şekil 8. F1-12h'nin sentezi, 2-amino-2-(2-(1-oktil-1H-tetrazol-5-il)etil)propan-1,3-diol hidroklorür.	23
Şekil 9. F2-9h sentezi, 3-amino-3-(hidroksimetil)-1-(4-(1-oktil-1H-tetrazol-5-yl)fenil)butan-1,4-diol hidroklorür.	24
Şekil 10. Amplifikasyon eğrisi	30
Şekil 11. Standard kalibrasyon eğrisi.....	31
Şekil 12. Erime eğrisi analizi	31
Şekil 13. pGL4.29 [luc2P/CRE/Hygro] vektör haritası	33
Şekil 14. FTY720'nin SK-N-SH hücre canlılığına etkisi.	35
Şekil 15. F1-12h'nin SK-N-SH hücre canlılığına etkisi	36
Şekil 16. F2-9'un SK-N-SH hücre canlılığına etkisi.	36
Şekil 17. SK-N-SH hücrelerinden izole edilen RNA'ların %1'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü.	37
Şekil 18. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde miyelinizasyon genlerine etkisi 1	40
Şekil 19. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde miyelinizasyon genlerine etkisi 2	40
Şekil 20. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde T hücre aktivasyon ve sinyal genlerine etkisi 1	41
Şekil 21. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde T hücre aktivasyon ve sinyal genlerine etkisi 2	41
Şekil 22. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde T hücre aktivasyon ve sinyal genlerine etkisi 3	42
Şekil 23. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde sitokin ve kemokin genlerine etkisi	43
Şekil 24. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde inflamasyonun düzenlenmesi genlerine etkisi.....	44
Şekil 25. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde inflamatuvar cevap genlerine etkisi 1	45
Şekil 26. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde inflamatuvar cevap genlerine etkisi 2	45
Şekil 27. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde inflamatuvar cevap genlerine etkisi 3	46
Şekil 28. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde nöronal apoptozis genlerine etkisi 1	47
Şekil 29. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde nöronal apoptozis genlerine etkisi 2	47

Şekil 30. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde apoptozis genlerine etkisi 1	48
Şekil 31. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde apoptozis genlerine etkisi 2	48
Şekil 32. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde apoptozis genlerine etkisi 3	49
Şekil 33. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde hücre adezyon genlerine etkisi 1	50
Şekil 34. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde hücre adezyon genlerine etkisi 2	50
Şekil 35. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde hücre adezyon genlerine etkisi 3	51
Şekil 36. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde hücre stres genlerine etkisi	51
Şekil 37. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde diğer multipl skleroz genlerine etkisi 1	52
Şekil 38. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde diğer multipl skleroz genlerine etkisi 2	52
Şekil 39. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde bioaktif lipit reseptör genlerine etkisi	54
Şekil 40. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde metabotropik glutamat ve gaba reseptör genlerine etkisi	55
Şekil 41. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde sekretin reseptör genlerine etkisi	56
Şekil 42. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde dopamin reseptör genlerine etkisi	56
Şekil 43. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde G protein & cAMP/PKA genlerine etkisi 1	57
Şekil 44. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde G protein & cAMP/PKA genlerine etkisi 2	58
Şekil 45. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde G protein & cAMP/PKA genlerine etkisi 3	58
Şekil 46. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde G protein & cAMP/PKA genlerine etkisi 4	59
Şekil 47. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde kalsiyum sinyal genlerine etkisi	59
Şekil 48. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde PKC sinyal genlerine etkisi 1	60
Şekil 49. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde PKC sinyal genlerine etkisi 2	61
Şekil 50. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde tirozin kinaz sinyal genlerine etkisi	61
Şekil 51. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde PI3K sinyal genlerine etkisi	62
Şekil 52. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde diğer GPCR sinyal genlerine etkisi	62
Şekil 53. FTY720'un EC10 dozunun SK-N-SH hücrelerinde MS ve GPCR sinyal genlerine etkisinin 'scatter plot' grafiği ile gösterimi	63
Şekil 54. F1-12h'in EC10 dozunun SK-N-SH hücrelerinde MS ve GPCR sinyal genlerine etkisinin 'scatter plot' grafiği ile gösterimi	64

Şekil 55. F2-9'un EC10 dozunun SK-N-SH hücrelerinde MS ve GPCR sinyallerine etkisinin 'scatter plot' grafiği ile gösterimi	65
Şekil 56. FTY720, F1-12H ve F2-9'un EC10 dozunun SK-N-SH hücrelerinde MS ve GPCR sinyallerine etkisinin 'clustegram' grafiği ile gösterimi	66
Şekil 57. cAMP kalibrasyon eğrisi	67
Şekil 58. SK-N-SH hücrelerinde FTY720 türevi bileşiklerin cAMP aktivitesi	68
Şekil 59. HEK293 hücrelerinde FTY720 türevi bileşiklerin CRE miktarı	69
Şekil 60. FTY720 uygulaması sonucunda ekspresyonları değişen genlerle ilişkili yolak	93
Şekil 61. F1-12h uygulaması sonucunda ekspresyonları değişen genlerle ilişkili yolak	93
Şekil 62. F2-9 uygulaması sonucunda ekspresyonları değişen genlerle ilişkili yolak	94

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1. Tezde kullanılan hücre hatları, özellikleri ve ihtiyaçları	24
Tablo 2. cDNA sentez karışımı	28
Tablo 3. RT-PCR koşulları.....	29
Tablo 4. PCR sıcaklık, döngü ve zamanları	30
Tablo 5. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücre hattında EC05 ve EC10 değerleri.....	37
Tablo 6. SK-N-SH hücrelerinde FTY720 ve türevi bileşiklerin cAMP aktivitesi	68
Tablo 7. HEK293 hücrelerinde FTY720 ve türevi bileşiklerin CRE miktarı ...	69

SEMBOL LİSTESİ

%	: Yüzde
°C	: Derece Celsius
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
4-AP	: Dalfampiridin
ACE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ACH	: Asetilkolin
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
ALP	: Amyotrofik lateral skleroz
ATP	: Adenozin trifosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
Bç	: Baz çifti
b-FGF	: Temel fibroblast büyüme faktörü
BİMS	: Birincil ilerleyen multipl skleroz
c-AMP	: 3'-5'- adenozin monofosfat
CdATP	: 2-kloro-2'-deoksiadenozin 5'-trifosfat
cm ²	: Ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu
CO ₂	: Karbondioksit
CRE	: cAMP yanıt elementi
CSF	: Kan-beyin-omurilik sıvısı
ÇSS	: Çevresel sinir sistemi
DAE	: Deneysel alerjik ensefalomyelit
DMSO	: Dimetil sulfoksit
dNTP	: Deoksinükleotit trifosfat
EAE	: Deneysel otoimmün ensefalomyelit
EC05	: %5 Etkin derişim
EC10	: %10 Etkin derişim
ECM	: Ekstraselüler matriks
EMEM	: Eagl's minimum esansiyal besiortamı
EtBr	: Etidyumbromür
FBS	: Fetal dana serumu
FDA	: Amerikan ilaç dairesi
FTY720	: Fingolimod
GA	: Glatiramer asetat
GDP	: Guanozin difosfat
Gi	: İnhibitör G proteini
GPCR	: G protein-bağlı reseptör
Gs	: Stimülatör G proteini
GTP	: Guanozin trifosfat
GTPaz	: Guanozin trifosfataz
G α	: G protein alfa
G β	: G protein beta
G γ	: G protein gama
HCL	: Hidroklorik asit
HEK-293	: İnsan embriyonik böbrek hücre hattı
HRP	: Horseradish peroksidaz
hS1P1R	: İnsan sfingozin 1 fosfat reseptör 1
Ig	: İmmünglobulin

IFNβ	: İnterferon beta
İİMS	: İkincil ilerleyen Multipl Skleroz
İNMS	: İlerleyen nükseden multipl skleroz
KBB	: Kan beyin bariyeri
kDa	: Kilo dalton
LOEL	: En düşük gözlenen yan etki düzeyi
M	: Molar
mA	: Miliamper
MBP	: Miyelin temel protein
mL	: Mililitre
mm	: milimetre
mM	: Milimolar
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MS	: Multipl Skleroz
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
İNİMS	: Nükseden iyileşen multipl skleroz
NK	: Doğal öldürücüler
NK	: Doğal öldürücüler
nm	: Nanometre
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NO	: Nitrikoksit
NOEL	: Yan etki düzeyi olmayan doz
PBS	: Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PDB	: Protein veri bankası
PML	: Progresif multi fokal lökoensefalopati
PTH	: Paratiroid hormon
PTH	: Paratiroid hormon
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
RT-PCR	: Ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu
S1P	: Sfingozin-1-fosfat
S1PR	: Sfingozin-1-fosfat reseptör
SK-N-SH	: İnsan nöroblastom hücre hattı
TAE	: Tris-Asetik asit-EDTA
TLR	: Toll benzeri reseptör
U	: Ünite
UV	: Ultraviyole
xg	: Göreceli merkezkaç kuvveti birimi

ÖNSÖZ

‘Multipl Skleroz (MS) Hastalığının Tedavisinde Kullanılan Fingolimod Benzeri İlaçların Biyoetkinliklerinin İncelenmesi’ çalışması 2013-2017 yılları arasında Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü A.B.D. Biyokimya ve Moleküler Toksikoloji Laboratuvarı’nda doktora tezi olarak hazırlanmıştır.

Laboratuvarının tüm imkânlarını sonuna kadar açan, deneyim olarak lisans, yüksek lisans ve doktora süresince yetişmemde çok büyük emeği olan, tez çalışmamın başından sonuna kadar, öncesinde ve sonrasında maddi ve manevi destek ve yardımlarını hiçbir zaman benden esirgemeyen, kendisiyle çalıştığım için her zaman şanslı hissettiğim, tecrübe ve eşsiz bilgilerinden yararlandığım, titiz ve disiplinli çalışmasını örnek aldığım değerli danışman hocam Prof. Dr. Alaattin ŞEN’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimde kullandığım bileşiklerin sentezlenmesini sağlayan bunun için bilgi, birikim ve laboratuvarını esirgemeyen, tezimin düzenlenmesi ve değerlendirilmesine katkı sağlayan Prof. Dr. Yılmaz YILDIRIR’a Tez izleme komitemde (TİK) yer alan tezimin başından sonuna kadar gerek TİK toplantılarında gerekse bu süre dışındaki zamanlarda beni yönlendiren ve bilgilendiren, tezimin düzenlenmesi ve değerlendirilmesine katkı sağlayan Doç. Dr. Yavuz DODURGA’ya, Tezimin düzenlenmesi ve değerlendirilmesi aşamasındaki yardımlarından ve katkılarından dolayı değerli jüri üyelerim Prof. Dr. Orhan ADALI ve Prof. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve beni her zaman motive eden çok değerli dostum ÖZDEN ÖZGÜN ACAR’a; laboratuvar çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Elif KALE, ve Nazmiye BOZAGAÇ’a; İyi günümde, kötü günümde bana destek olan, eşim Bekir CAN TURGUT’a ve her zaman yanımda olan ve beni bugünlere özveriyle getiren aileme sonsuz teşekkürler ederim.

Ayrıca maddi desteği sağladığı için Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (2014FBE028) ve TÜBİTAK’a (113Z141) teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

Multipl Skleroz (MS), beyine ve omuriliğe etki eden bir bağışıklık sistemi hastalığıdır. MS'in çeşitli tipleri olsa da tümü merkezi sinir sisteminin (MSS) iltihaplanması olarak bilinir. Bağışıklık sistemi, sinirleri çevreleyen miyelin kılıfını patojen bir yapı olarak algılamakta ve ona karşı tepki göstermektedir ve bu olay miyelinsizleşme şeklinde tanımlanmaktadır.

MS tedavisinde sinirleri hasar görmekten korumaya yardımcı olan, lezyonların gelişimini önleyebilen ya da en azından bunu yavaşlatan bazı ilaçlar kullanılmaktadır. MS'te ilaç tedavisinin ana hedefi sinir hücresindeki miyelin ve aksonun yıkımına neden olan iltihap oluşturan süreci kontrol altına alarak hastalığın ilerlemesini engellemek ve durdurmaştır. Bu amaçla fingolimod, kladribin, alemtuzumab, interferonlar, glatiramer asetat, teriflunomid, mitoksantron, daclizumab, dimetilmumarat, natalizumab ve dalfampiridin gibi etken maddeler sıklıkla kullanılmakta ve ticari olarak üretilmektedir. Tıpta kullanılmakta olan bu bileşiklerin birçoğu ticari olarak üretilen bileşikler olup bu konudaki çalışmaların birçoğu patentlidir. Günümüzde MS tedavisinde kullanılan ilaçlar tam olarak bir iyileşme sağlayamamakta ve hastalığı tam olarak durduramamaktadır. Bunun yanı sıra kullanılan bu ilaçlar karaciğer enzimlerinde yükselme, retinada ortaya çıkan ödem, yüksek tansiyon ve kalp ritim bozuklukları gibi yan etkiler de ortaya çıkarmaktadır.

Fingolimod (FTY720), MS tedavisinde kullanılan ilk oral ilaçtır. Sfingolipid benzeri olan ve '*Isaria sinclairii*' metaboliti myriosinden elde edilmektedir. Sfingozin kinaz ile hücre içinde fosfatlanan FTY720, sfingozin-1-fosfat (S1P) reseptörlerine bağlanarak lenfositlerin lenf bezlerinden çıkışını engeller. FTY720 kullanımında diğer ilaçlara göre MS ataklarında %60'a varan azalma gözlenebilmektedir. Ancak lenf sistemi kanseri, kalp ritim bozuklukları, yüksek tansiyon ve karaciğer enzimlerinde bozukluk gibi yan etkileri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle bu çalışmada FTY720 benzeri bileşiklerin, S1P1 reseptörleri ile etkileşimleri moleküler 'docking' işlemi ile teorik olarak belirlenmiş ve S1P1 reseptörüne en yüksek ilgi duyması beklenen bileşikler sentezlenmiş ve biyolojik etkinlikleri incelenmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin MS hastalığına karşı etkileri; S1P reseptörlerine ve S1P ile aynı aileden (GPCR) olan diğer reseptörlere bağlanmaları, MS ile ilgili olduğu bilinen bir dizi diğer gen üzerine olan etkileri tespit edilerek uygunluğu literatürde çeşitli çalışmalar ile gösterilmiş olan insan nöroblastom (SK-N-SH) hücre hattı kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca, FTY720 ve türevleri için ilgili hücre hattında cAMP düzeyleri ölçülmüştür. Böylelikle, sentezlenen bileşiklerin hücre içi cAMP miktarı ve cAMP üzerine etkileri belirlenmiştir.

Bu doktora tezinin ana amacı; MS hastalığında kullanılacak FTY720 türevi bileşiklerin bilgisayarlı tasarımı ve kimyasal sentezi ile elde edilen bileşiklerin MS hastalığına karşı biyoetkinliklerinin belirlenmesidir. Bu çalışmayla birlikte antagonist, antitümör, immünsüpresif gibi etkiler gösterebilecek, etkinliği yüksek, yan etkileri mevcut diğer ilaçlara göre az olan sfingolipid türevi ilaçların literatüre kazandırılması amaçlanmaktadır. Ayrıca uzun vadeli hedefler arasında, bu sfingolipid türevi ilaçların üretimini ticari ölçüğe getirerek Türk ilaç sektörüne sunmak yatmaktadır. Sonuç olarak bu tez ile yurt dışından ithal edilen MS ilaçlarına benzer etkinlik gösterebilecek ilaçların ülkemizde üretilmesi ile ülke ekonomisine katkı sağlanabileceği umulmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Multipl Skleroz'un Tanımlanması

MS; beyin, beyincik ve omurilikten oluşan merkezi sinir sistemini (MSS) etkileyen nörolojik bir rahatsızlıktır. Genelde genç erişkinlerde, 20-40 yaş aralığında, daha sık rastlanmaktadır (Noseworthy ve diğ. 2000; Compston ve Coles 2002). MS hastalığının keşfi 1868 yılına kadar uzanmaktadır. Tıp doktoru olan Fransız nörolog Jean-Martin Charcot o yıllarda daha önce hiç görmediği bir titreme rahatsızlığı ile karşılaşmıştır. Titreme dışında konuşma bozukluğu ve istemsiz göz hareketlerinin olduğunu fark etmiştir. Bu rahatsızlığın görüldüğü başka hastalara da ulaşmış ve ölen hastaların beyinlerini incelediğinde tüm hastalarda MS'in etkisi olan plakları fark etmiştir (Compston 1988).

MS, tekrarlayan inflamatuvar demiyelinizasyon sonucu değişen derecede akson kaybı da içeren gliotik yara ilişkili, kalıcı demiyeline plakların oluştuğu, merkezi sinir sisteminin bağışıklık sistemi kaynaklı kronik bir hastalıktır (Steinman 2001). Hastalığın etkilediği bölge olan merkezi sinir sistemi, kişinin duyu organlarından aldığı bilgiyi kontrol eder ve beyinde işler. Bu bilgiler sinir hücreleriyle aktarılan elektriksel impulslarla sağlanır. Sinir hücresine bakıldığında hücre gövdesi, dendrit, akson ve akson üzerinde bulunan yağsı yapıdan oluşan miyelin kılıftan meydana gelmektedir. Duyu organlarından alınan elektriksel impulslar sinir hücresine dendrit tarafından girerek aksone gelir. Aksondaki miyelin kılıf sayesinde bu impulslar hızlandırılarak sinapslarla diğer sinir hücresine geçer. Nöron miyelini bir elektriksel impulsu saniyede 100 metreden daha hızlı olacak şekilde iletilmesini sağlar. Nöronları çevreleyen miyelin kılıfın yok olması ya da zarar görmesi durumunda sinir impulsları yavaşlar, yanlış birimlere iletilir ya da tamamen iletilemez duruma gelir. Bu durumda elektriksel impulslar sinir hücresi boyunca iletilmediği için beyine ulaşamaz ve hastanın fiziksel hareketleri kısıtlanır.

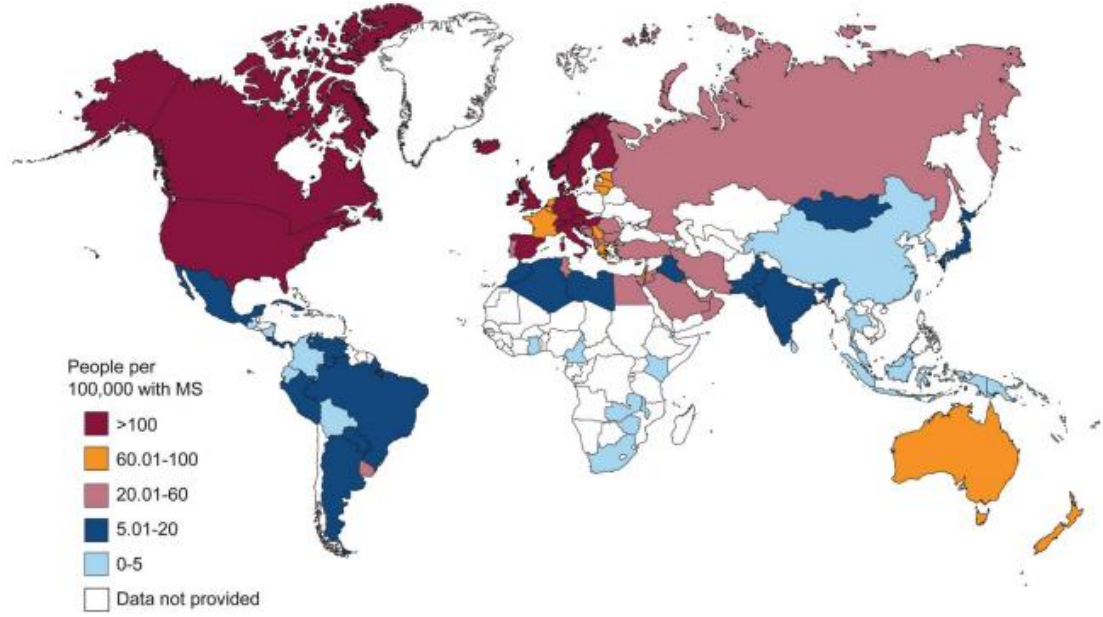
Hastalığın klinik sınıflandırılması büyük ölçüde hastalığın seyrine dayanmaktadır ve genel olarak 4 tipi vardır (Stauffer 2006). Bunlar;

1. Nükseden İyileşen MS (Relapsing-Remitting MS - NİMS)
2. İkincil İlerleyen MS (Secondary-Progressive MS - İİMS)
3. Birincil İlerleyen MS (Primary-Progressive MS – BİMS)
4. İlerleyen-Nükseden MS (Progressive-Relapsing MS – İNMS)

MS hastalığının kategorize edilmiş ve alt tipleri tanımlanmış olmasına rağmen, hastalığın seyri ve semptomları oldukça heterojendir. Hastalıkların yaklaşık %85'i en sık görülen formu NİMS tipinde olmasına rağmen, farklı hastalık belirtilerinin gerçekten nasıl teşhis edildiği ve bunun tek bir tip olarak sınıflandırılması gerçekten çok önemli bir zorluktur. Çünkü bu sınıflandırmanın farklı patofizyolojik mekanizmaların anlaşılması ve tedavi hedeflenmesi üzerinde önemli etkileri vardır.

2.2 Multipl Skleroz'un Prevelansı

MS dünyanın en yaygın nörolojik bozukluklarından biridir. Pek çok ülkede genç erişkinlerde trafik kazaları dışında meydana gelen nörolojik özürlülüğün birinci nedenidir. Buna rağmen, MS epidemiyolojisi ve MS'li kişiler için gerekli kaynak ve hizmetlerin kullanılabilirliği hakkında küresel bilgi dünyanın birçok bölgesinde azdır (Browne ve diğ. 2014). 2008 yılında Uluslararası MS Örgütü ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından başlatılan ortak proje ile ilk dünya MS atlası oluşturulmaya başlanmış (Şekil 1) ve 112 ülkeden toplanan bilgilerle bu konuda var olan bilgi açığı doldurulmaya çalışılmıştır.



Şekil 1. 2013 yılı küresel Multipl Skleroz prevalansı (Browne 2014)

2008 yılında 2,1 milyon olan MS'li kişilerin tahmini sayısı 2013 yılında 200 bin kişi artarak 2,3 milyona ve günümüzde de bu rakam 2,5 milyona yükselmiştir (Dendrou ve diğ. 2015). Bu rakamın daha da yüksek olduğu tahmin edilmektedir ve artış seyrinin yükselerek devam ettiği bildirilmektedir (Browne ve diğ. 2014). Ülkemizde de 2008 yılına oranla MS prevelansı artmaktadır.

2.3 Multipl Skleroz'un Etiyolojisi

MS'in etiyolojisi tam bilinmemekle beraber, çevresel faktörler tarafından genetik olarak hassas/yatkın olan kişilerde tetiklenen "kompleks bir karakter" olarak kabul edilmektedir (Sospedra ve Martin 2005). Genetik bileşenin karmaşıklığı ailesel çalışmalar ve son dönemlerde gerçekleştirilen tüm genom çalışmalarıyla ortaya konulmuştur (Dyment ve diğ. 2004). MS kalıtsal bir hastalık olmamasına rağmen aynı aile içinde MS vakalarının görülebilirliği genetik bileşenlerle güçlü bir etkileşim olduğunu ortaya koyar niteliktedir. MS hastalarının birinci derece akrabalarında MS görülme riski normal popülasyonda görülme riskine (mutlak risk %2-5) göre 10-50 kat daha fazladır ki monozigotik ikizlerde risk yaklaşık üçte bir oranındadır (Weinshenker 1996; Kantarci 2008).

Tüm genom bağlantı analiz çalışmaları sayesinde MS ile ilişkili olduğu düşünülen birkaç gen lokusu belirlenmiştir. 1970'lerin başında belirlenen immün

fonksiyonlarla ilişkili genleri kodlayan insan lökosit antijen kompleksi (HLA), ilk bulunan genetik risk faktörüdür (Jersild ve diğ. 1972; Sawcer ve diğ. 2011). Yakın zamanlarda yapılan çalışmalar ise HLA sınıf II uzantılı DRB1*1501, haplotipinin MS için oldukça güçlü bir genetik risk oluşturduğunu göstermektedir (Oksenberg ve diğ. 2004; Sawcer ve diğ. 2011). Son zamanlarda interlökin 2 reseptör alfa geni (IL2RA) ve interlökin 7 reseptör alfa geni (IL7RA) allelleri de risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (Hafler ve diğ. 2007). Bunların yanı sıra bir dizi MS yatkınlığı ile ilişkili olan MHC olmayan gen/lokus tanımlanmıştır (Sawcer ve diğ. 2011).

Son yapılan tüm genom bağlantılı analiz çalışmalarında 14.498 MS hastası ve 24.091 sağlıklı kontrol örnekte genotipleme dizi analizi yapılarak, 161.311 otozomal varyant taranarak 135 potansiyel MS ilişkili lokuslar belirlenmiştir (Beecham ve diğ. 2013). Bu genlerin çoğu (CXCR5, IL2Ra, IL7R, IL12RB1, IL22Ra2, IL12A, IL12B, IRF8, TNFRSF1A, TNFRSF14 ve TNFSF14, CD37, CD40, CD58, CD80, CD86, CLECL1, CBLB, GPR65, MALT1, RGS1, STAT3, TAGAP, TYK2) bağışıklık sistemi ile ilişkili olmasından dolayı, MS'in immün aracılı olduğunu desteklemektedir.

Bütün bunlara rağmen halen MS'e yatkınlığın altında yatan pek çok genetik faktör aydınlatılamamıştır. Dahası genetik yatkınlık MS risk faktörlerinin tek başına nedeni değildir, bunun yanında çevresel faktörlerin de rol oynadığı bilinmektedir. Viral enfeksiyonlar, sigara ve D vitamini eksikliği gibi çevresel faktörlerin MS patojenezinde önemli olduğu ileri sürülmektedir (Handel ve diğ. 2011). D vitamini eksikliği ve Epstein-Barr virüs enfeksiyonunun MS oluşumu ile güçlü bağlantısı çalışmalarla gösterilmiştir (Ascherio ve Munger 2007^{a,b}; Ransohoff 2010). Sigara MS yatkınlığı için önemli bir başka çevresel risk faktörü olarak ortaya çıkmaktadır. Diğer risk faktörlerinde olduğu gibi, sigara, diğer genetik ve çevresel faktörler ile bağlantılı olarak MS'e yatkınlığı etkileyebilir (Wingerchuk, 2012).

Etiyolojisi tam olarak bilinmese de, çoğu kanıt hastalık oluşumunda otoimmün patogenezi destekler niteliktedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar MS'te otoimmün cevabın başlamasında miyelin spesifik CD4⁺ T hücrelerinin kritik rol oynadığını göstermektedir (Bielekova ve diğ. 2000). Merkezi tolerans oluşturulması sırasında timüs tarafından otoreaktif T hücreleri silinir. Ancak bu işlem mükemmel değildir. Zaman zaman bazı otoreaktif T hücreleri çevresel sisteme salınır. Sağlıklı bireylerde bu işleyiş periferik tolerans mekanizmaları ile kontrol

altındadır. Ancak düzenleyici T hücrelerinin işlevlerinin baskılanması ve/veya efektör B ve T hücrelerinin artan dirençleri sayesinde bu mekanizmalar bastırılır. Böylelikle merkezi sinir sistemi (MSS) otoreaktif T ve B hücreleri çevresel sistemde aktive olurlar. Yukarıda bahsedilen enfeksiyöz ajanlar ve sigara gibi bileşenler de dâhil olmak üzere, genetik ve çevresel faktörler, bu olaylara katkıda bulunur (Dendrou ve diğ. 2015).

Aktif hale gelen $CD8^+$ T hücreleri farklılaşmış $CD4^+$ yardımcı T1 (Th1) ve Th17 hücreleri, B hücreleri ve doğal bağışıklık hücreleri, MSS'ne sızabilir (infiltrasyon), enflamasyon ve doku hasarına yol açar (Bielekova ve diğ. 2004; Goverman 2009; Henaka ve diğ. 2014). Periferden MSS'ine immün hücre infiltrasyonu, beyin zarı kan damarlarında kan-beyin bariyerinin doğrudan geçişiyle, subaraknoid boşluk üzerinden veya kan-beyin-omurilik sıvısı (CSF) bariyeri boyunca koroidpleksus üzerinden olabilir. Bu hücreler perivasküler alanlarda birikir ve merkezi sinir sistemi (MSS) parenşimasına girerler. Etkinleşen MSS-yerleşik mikroglia ve astrositler ile birlikte bu giren hücreler, doğrudan hücre teması ilişkili mekanizmalar vasıtasıyla ve çözünür enflamatuvar ve nörotoksik araçların etkimesi ile oligodendrosit (ODC) hasarı, demiyelinizasyon ve nöroaksonal yaralanmaları tetiklerler. Hastalığın ilerleyen sürecinde bu hasarlar skleroz adı verilen plakların oluşumuna neden olur (Wu ve Tsirka 2009; Mikita ve diğ. 2011).

2.4 Multipl Skleroz Tedavisinde Kullanılan FDA Onaylı İlaçlar

Günümüzde MS'in immunopatojenik mekanizması fark edilerek nasıl ilerlediği daha anlaşılır hale gelmeye başlamıştır. Bu ilerlemelerde yeni hedefler belirlenmiş ve bazı yeni tedaviler başarıyla klinik değerlendirmelerde denenmiştir. Bu sonuçlarla ümit verici bileşiklere ulaşılmış ve bu bileşiklerin gerçekleşmesi mümkün olan ve bilinen riskleri tartışılmaya başlanmıştır. Ancak MS tedavisinde kullanılan ilaçlar, tam olarak bir iyileşme sağlayamamış ve hastalığı tam olarak durduramamıştır. İlaç etkilerini inceleyen bir araştırmaya göre (Kappos ve diğ. 2010), ilaç alan hastaların beyinlerinde oluşan plaklarda azalma ve nörolojik kötüleşme hızlarında yavaşlama olmasına rağmen atak sıklıklarında en fazla %60'a kadar olan bir azalma gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra kullanılan bu ilaçların karaciğer enzimlerinde yükselme, retinada ortaya çıkan ödem, yüksek tansiyon, kalp

ritim bozuklukları ve kanser gibi birçok yan etkileri bulunmaktadır. Ayrıca nabızda düşme, gribal enfeksiyonlar, baş ağrısı, ishal, sırt ağrısı ve öksürük gibi yan etkiler de ortaya çıkmaktadır. Düşük dozda ilaç alanlarda yüksek dozda ilaç alanlara göre daha az yan etki gözlenmiştir. Kortizon tedavisi ise atakların azalmasında belirgin etki göstermesinin yanı sıra uzun süreli tedavide olumsuz etkileri bilinmektedir.

Charcot'un bulgularından sonra, Eugène Devi (1858-1930), Jozsef Balo (1895-1979), Paul Ferdinand Schilder (1886-1940) ve Otto Marburg (1874-1948), yirminci yüzyılda hastalığın etki mekanizması hakkında önemli teoriler ortaya atmışlardır (Compston ve Coles 2002). Ayrıca ilk kez tedavi edici ilaçlar olarak, interferon beta (IFN β) ve glatiramer asetat (GA) 1990'larda sentezlenmeye başlanmıştır. Bununla birlikte, günümüzde MS'in semptomatik tedavisinde kullanılan dokuz adet FDA tarafından onaylanmış, hastalığı modifiye edici ilaç bulunmaktadır. Ancak bugün çevresel faktörler tarafından genetik olarak hassas olan kişilerde tetiklenen ' karmaşık karakterli' olarak kabul edilen MS için hala tamamen etkin bir tedavi yöntemi yoktur.

IFN β son 20 yılda NİMS tedavisi için en yaygın olarak kullanılan terapötik olmuştur. Klinik çalışmalarda nüks oranı %30 azalma göstermiş (Paty ve Li 1993; Jacobs ve diğ. 1996; Kułakowska ve Drozdowski 2014) olmasına rağmen, sakatlık-engellilik oluşumunu azaltması açısından uzun vadeli faydası tartışılmaktadır. IFN β klinik etkilerinin arkasındaki mekanizma tam olarak anlaşılammıştır, ancak birkaç olası açıklaması incelenmiştir. Bir hipoteze göre sitokin dengesini daha fazla antiinflamatuvar ortamı oluşacak şekilde değiştirmesi olarak kabul edilmektedir (Ozenci ve diğ. 2000; Chen ve diğ. 2009). Bağışıklık sisteminin bu şekilde baskılanması MSS'nin inflamasyon kaynaklı doku hasarını azaltarak MS hastalarında yararlı olabilmektedir. Diğer bir hipotez de lenfositlerin göçü için gerekli olan yapışma moleküllerinin ekspresyonunu azaltarak kan beyin bariyeri (KBB) bütünlüğünü güçlendirme yeteneğine dayanır (Kieseier 2011). Yan etkileri arasında hepatoksisite, hipotiroidizm, yorgunluk, depresyon, hafif lenfopeni sayılabilir.

Glatiramer asetat miyelin temel proteinin (MBP) en yaygın dört aminoasidini içeren bir peptit oluşumudur ve dünya çapında çok sık kullanılan bir MS immünmodulator tedavi ajanıdır (Caporro ve diğ. 2014; Johnson ve diğ. 1995). Tedavi edici etkinliği düşüktür. İlk olarak farelerde deneysel alerjik ensefalomyelit

(DAE) oluşumunu tetiklemek için tasarlanmıştır. Bunun aksine, rhesus maymunlarında DAE indüksiyonunu baskılaması ile MS için bir ilaç olma potansiyeli ortaya konmuştur (Teitelbaum ve diğ. 1974). MBP peptitleriyle rekabet yoluyla miyelin antijenlerine karşı toleransı indüklemesi nedeniyle miyeline karşı bağışıklık tepkisini engellenmesi, etki mekanizması olarak öngörülmektedir (Neuhaus ve diğ. 2001). Son çalışmalar, GA'nın NİMS (Nükseden İyileşen Multiple Skleroz) tedavisinde IFN β 'a benzer, uzun dönem tedavi etkinliğine sahip olduğunu önermektedir (Mikol ve diğ. 2008; O'Connor ve diğ. 2009). Bilinen önemli toksisitesi ve sistemik etkisi yoktur.

Bugüne kadar NİMS'de en etkili tedavi ajanı natalizumab olarak adlandırılan monoklonal bir antikordur. Natalizumab, lenfositlerin KBB'den MSS'ne ve diğer dokulara göçü için gerekli, $\alpha 4\beta 1$ ve $\alpha 4\beta 7$ integrinlerinin önemli bir bileşeni olan $\alpha 4$ -integrin altbirimine bağlanır ve etkili bir tedavi ajanıdır (Havrdova ve diğ. 2009). İlaç MSS'nde lezyon oluşumunda genel bir azalmanın yanı sıra, hastalık ilerlemesinde de azalma göstermiştir (Pucci ve diğ. 2011). KBB genelinde lenfosit trafiğini devre dışı bırakmanın önemli bir yan etkisi olarak, fırsatçı enfeksiyonlar ile başa çıkmak için bağışıklık sistemi yeteneğinin azalmış olmasıdır. Özellikle John Cunningham (JC) virüsü sorunlu olmuştur ve Natalizumab tedavisinde NİMS hastalarında progresif multifokal lökoensefalopati (PML) şeklinde ciddi yan etkilere yol açmıştır (O'Connor ve diğ. 2011; Sorensen ve diğ. 2012). 2012 Mayıs itibarıyla, natalizumab ile tedavi edilen 100.000 hastada 212 PML olgusu rapor edilmiştir. (Bloomgren ve diğ. 2012). Bu çok ciddi bir yan etkidir. Natalizumab tedavisi kesildiğinde, hastalık seyrinin başlangıç seviyesine döndüğü görülmüştür (O'Connor ve diğ. 2011).

Mitoksantron hem NİMS hem de İİMS (İkincil İlerleyen Multipl Skleroz) tedavisi için kullanılır. Mitoksantron bağışıklık sistemini baskılayıcı ve düzenleyici özelliği olan bir ilaçtır. Mitoksantron lenfosit proliferasyonunu engelleyen DNA sentezi ve topoizomeraz II enzim inhibisyonu ile DNA onarımını bozarak etki gösterir. Mitoksantron IFN γ , TNF α ve IL2 salgılanmasını azaltır ayrıca B lenfositlerin ve monositlerin apoptoza gitmesine neden olur (Lenk ve diğ. 1987; Rosenberg ve diğ. 1986; Fidler ve diğ. 1986; Bellosillo ve diğ. 1998). Ciddi yan etkileri yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Crossley 1984; Martinelli ve diğ. 2009; Ghalie ve diğ. 2002). Yan etkileri nedeniyle toplamda en fazla 2 yıl süreyle

verilebileceği belirtilmektedir. Mitoksantron NİMS'te nüks oranını azaltır ve hem NİMS hem de İİMS'te engellilik artışını yavaşlatmaktadır (Fox 2006; Tramacere ve diğ. 2015).

Teriflunomid, NİMS tedavisi için onaylanan oral ilaçtır ve pirimidin sentezini inhibe ederek özellikle hızla çoğalan lenfositler gibi hücreler için çok önemli olan DNA sentezini inhibe ederek etki gösterir. Metodolojik olarak hızla çoğalan ve miyelini hedefleyen efektör hücrelerinin inhibisyonu ve dolayısıyla güçlü bir immün yanıtın bloke edilmesi, mitoksantron etkisine benzerdir (O'Connor ve diğ. 2011; Miller ve diğ. 2012). Önemli yan etkileri arasında ishal, kusma, karaciğer enzim düzeylerinde yükselme görülür. Teriflunomid enjeksiyon uygulama yerine oral kullanım avantajı sağlar ve nüks oranı IFN β ve GA'ya benzer etkilere sahiptir.

Son zamanlarda (2014) NİMS tedavisi için onaylanmış bir diğer oral ilaç fumarik asitin bir esteri dimetilfumarattır. Kesin etki mekanizması bilinmemekle birlikte, oksidatif stres tepkisinde rol alan eritroid-türevi-2 transkripsiyon faktörü üzerinden etki ederek, antiinflamatuvar ve hücre koruyucu özellikler sergilediği önerilmektedir. Dimetilfumarat ile yapılan DAE çalışmaları kan beyin bariyeri üzerindeki aktive lökosit göçünün azaldığını göstermiştir. Dimetilfumarat'ın nöron koruyucu etkisi de vardır. Genellikle iyi tolere edilmektedir, deri döküntüleri ve ishal, bulantı, karın ağrısı gibi gastrointestinal olaylar sık bildirilen yan etkilerdir. Teriflunomid için olduğu gibi, çok yeni olması nedeniyle yan etki ve tedavi etkinliği için yapılan çalışmalar dışında bağımsız kullanıcılar tarafından üretilmiş yeterli veri yoktur (Lee ve diğ. 2008; Moharregh ve diğ. 2009).

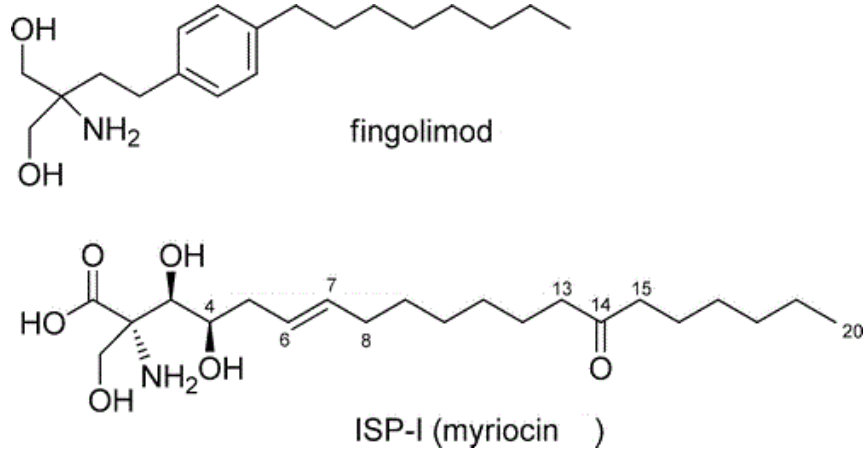
Dalfampridin (4-AP), C₅H₄N-NH₂ kimyasal formülü olan bir organik bileşiktir. Bu molekül piridinin üç izomerik amininden biridir. Bir potasyum kanalı bloke edici olarak çalışır. Demiyelize aksonlarda elektrofizyolojik çalışmalar, artmış potasyum akımlarının, hücre dışı potasyum iyonu konsantrasyonunu arttırdığını ve bu da iletim başarısızlığına neden olabilecek aksiyon potansiyel süresini azalttığını göstermektedir. Potasyum kanal blokajı bu etkiyi tersine çevirir (Judge ve Bever 2006). Bir çalışma, dalfampridin güçlü bir kalsiyum kanal aktivatörü olduğunu ve doğrudan kalsiyum kanalı beta alt birimi üzerinde hareket ederek sinaptik ve nöromusküler fonksiyonu geliştirebildiğini göstermiştir (Wu ve diğ. 2009). FDA tarafından MS semptomlarını azaltmak için 22 Ocak 2010'da onaylanmıştır. Dalfampridin'in görsel fonksiyon ve motor becerileri geliştirdiği ve MS hastalarında

yorgunluğu hafiflettiği gösterilmiştir. Yan etkileri baş dönmesi, sinirlilik ve mide bulantısıdır ve tüm çalışmalarda yan etki insidansının %5'ten az olduğu gösterilmiştir (Hersh ve Rae-Grant 2012). 4-AP ile tedavi edilen MS hastaları %29,5 ila %80 arasında bir yanıt oranı sergilemiştir. Belirtileri düzelse de, dalfampiridin MS'in ilerlemesini inhibe etmez.

Daclizumab, NİMS hastası olan yetişkinlerin tedavisinde kullanılan terapötik bir monoklonal antikordur. T hücrelerinin IL2 reseptörünün α - alt birimi olan CD25'e bağlanarak inhibe eder (Zhang ve diğ. 2014). Subkütan olarak uygulanır. Klinik çalışmalarda yıllık tekrarlanma oranında %45, nüks eden hastalarda %41, yeni lezyonlarda %54 azalma göstermiştir (Lycke 2015). Ancak kanser, karaciğer enzimlerinde yükselme, deri döküntüleri, uykusuzluk, titreme, baş ağrısı, arteriyel hipertansiyon gibi yan etkileri bulunmaktadır. Nadir durumlarda, ilaç şiddetli anafilaksiye neden olabilir (Milo 2014). Daha önce siklosporin ve kortikosteroidler ile birlikte böbrek nakli yapılan kişilerin akut reddini önlemek için 'Zenapax' ticari ismi altında pazarlanmıştır, ancak bu amaçla ilacın pazarlanması piyasa talebinin yetersizliği nedeniyle 2009'da durdurulmuştur, Mayıs 2016'da 'Zinbryta' ticari adı ile MS tedavisi için FDA (Amerikan İlaç Dairesi) tarafından onaylanmıştır.

MS tedavisinde yakın zamana kadar kullanılan ilaçlar sadece injeksiyon ve/veya infüzyon yoluyla verilebilen IFN β ve GA ile sınırlıydı. NİMS tedavisi için ilk sırada IFN β ve GA sayılabilirken, ikinci sırada mitoksantron ve natalizumab yer alırdı. Mitoksantron aynı zamanda İİMS için de onaylanmış bir ilaçtır. Bugün için BİMS tedavisi için onaylanmış bir ilaç yoktur. Mevcut MS tedavileri başlıca inflamatuvar sitokin/kemokinleri hedeflemektedir. Ancak, nörodejenerasyonu önlemeye veya onarımı arttırmaya yönelik yeni tedavilere de gereksinim duyulmaktadır. İnjesiyon tedavisinin yaratabileceği güçlükler ve sadece inflamasyonu hedefleyen tedavilerin suboptimal olması nedeniyle, daha kolay uygulanabilen ve daha geniş etki spektrumuna sahip ilaç arayışları halen sürmektedir. Son zamanlarda pek çok oral preparat Faz II ve Faz III araştırmalarda MS hastalarında incelenmektedir. FTY720, 2010 yılı sonlarında FDA tarafından NİMS için onay alan ilk oral ilaç olmuştur. Daha sonra Avrupa Birliğinde ve 2011 yılında Türkiye'de ruhsat almıştır (Kappos ve diğ. 2010).

FTY720, ilk olarak sfingolipid benzeri olan ve *Isaria sinclairii* metaboliti myriosinden elde edilmiştir (Şekil 2), (Fujita ve diğ. 1994; Adachi ve diğ. 1995). Myriosin düşük derişimde bile bağışıklık sistemini inhibe etmektedir. Elde edilen bu ekstrakt yaşlanma karşıtı özellikleri nedeniyle geleneksel Çin tıbbında da kullanılmıştır (Yeh ve Weinstock-Guttman 2011).



Şekil 2. FTY720 ve Myriocin'in kimyasal yapısı

FTY720 doğal sfingozinin yapısal analogudur. Sfingozin-1-fosfat (S1P), inflamasyon ve onarımda önemli rol oynayan doğal bioaktif sfingolipiddir. Bağışıklık sisteminde S1P sinyalleri S1P1R'lerine bağlanarak bazı lenfositlerin lenf nodlarından dışarıya çıkışını düzenler (Massberg ve vonAndrian 2006; Mehling ve diğ. 2011). Beş adet S1P1R vardır; S1PR1, lenfositlerde, nöral hücrelerde, endotel hücrelerde, monositlerde ve düz kas hücrelerinde bulunur. Lenfositlerin lenf nodüllerinden çıkışında, nöral hücre göçünde, damar oluşumunda, endotel bariyer olarak, kardiyovasküler sistem ve sinir sistemi gelişiminde rol oynar. S1PR2, MSS, endotel hücreler ve düz kas hücrelerinde bulunur. Endotel bariyer olarak ayrıca duyma ve dengede rol alır. S1PR3 nöral hücre, endotel hücre ve düz kas hücrelerinde bulunur. Nöral hücre göçünde ve endotel bariyer olarak rol alır. S1PR4 sadece lenfositlerde bulunur. Lenfoid doku ekspresyonu, dendritik ve TH17 hücre modülasyonu ve vazokonstriksiyonda rol alır. S1PR5, MSS, oligodendrositler ve doğal öldürücü hücrelerde bulunur. Oligodendrosit işlevlerinde ve doğal öldürücü hücrelerin göçünde rol alır (Subei ve Cohen 2015). FTY720 lenfositler ve nöral hücreler üzerindeki S1P reseptör modülasyonunu gerçekleştirir. FTY720 beş S1PR'den (S1PR1, S1PR3, S1PR4, S1PR5) dördüne bağlanarak lökosit dolaşımında, vazoregulasyonda, nöral hücre ve endotel hücre işlevlerinde ve kardiyovasküler

gelişimde rol oynar (Massberg ve vonAndrian 2006; Subei ve Cohen 2015). FTY720 lenfositler üzerindeki S1P1 reseptörlerini baskılayarak, lenfositlerin lenf dokusu ve kan arasındaki S1P gradyanı boyunca hareket etmelerine izin vermez, lenf nodlarından lenfositlerin çıkışını engeller (internalizasyon). Bu da otoreaktif T ve B lenfositlerin MSS gibi inflamasyon bölgelerine ulaşmasını engeller. FTY720 sadece lenfoid organlarda dolaşan lenfositleri tutabilir (CCR7⁺). FTY720'nin tutabildiği hücre tipleri arasında 'native' T hücreleri, merkezi bellek T hücreleri ve B hücreleri sayılabilir. Dokularda ve kanda bulunan efektör bellek T hücreleri etkilenmez. MS hastalarının dolaşımındaki IL17 üreten TH17 bellek T hücre sayısını azaltır (Mehling ve diğ. 2011). Bu durumda proinflamatuvar TH17 hücrelerin MSS'ye geçişini azaltacaktır. FTY720 lenfositleri yok etmeden redistribusyona yol açar. Önemli sayıda lenfosit lenf nodu içinde hapsedileceğinden, periferik kan lenfosit sayısında azalma görülmesi farmakodinamik etkidir. Lenfosit sayısındaki düşüş ilk doz uygulandıktan sonra birkaç saat içinde ortaya çıkar ve yaklaşık 1 hafta sonra en düşük düzeye ulaşır. Tedavinin kesilmesinden sonra da lenfosit sayısı yükselmeye başlayarak birkaç hafta içinde normal değerlere ulaşır (Kovarik ve diğ. 2007). FTY720'nin immün sistem üzerindeki etkilerinin yanı sıra nöral hücrelerdeki S1P reseptörlerinin modülasyonu ile de doğrudan MSS üzerinde olumlu etkilere yol açmaktadır. Lipofilik özelliğinden dolayı S1P reseptörlerinin yaygın olarak bulunduğu MSS'ye kolayca geçebilir. Oligodendrosit ve astrositler üzerindeki S1P reseptörleri ile etkileşir ve kalsiyum sinyalizasyonunu başlatır (Miron ve diğ. 2008).

FTY720'nin prelinik çalışmaları sıçan deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) modeli üzerinde hem profilaktik hem de terapötik etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Foster ve diğ. 2009). FTY720'nin EAE'deki etkinliğinde nöral hücrelerdeki S1P1 reseptörleri de rol oynar (Chun ve diğ. 2010). Nöral hücrelerden S1P1 silinmesi sonucunda EAE skorları azalır. Ayrıca, S1P1 'knock-out' farelerin FTY720 ile tedavisi, lenfosit sayılarını düşürse de hastalık aktivitesinde daha fazla azalmaya yol açmaz; bu da S1P1 reseptörlerinin MSS'deki rolünü düşündürmektedir (Mehling ve diğ. 2011).

FTY720'nin gerek prelinik gerekse yineleyici MS hastalarında yürütülen Faz II ve Faz III çalışmaları oldukça yüz güldürücü sonuçlar vermiştir. FTY720 kullanan hastalarda nüks oranının yaklaşık %50 azaldığını ve engellilik ilerlemesini yavaşlattığını bildirilmektedir (Kappos ve diğ. 2010). Ancak yapılan klinik

çalışmalar sonucunda oldukça ciddi yan etkilere sahip olduğu görülmüştür. Kalp krizi riski, yüksek karaciğer enzim düzeyleri, hipertansiyon ve cilt kanseri önemli yan etkileri arasında bilinmektedir (Kappos ve diğ. 2010; Cohen ve diğ. 2010).

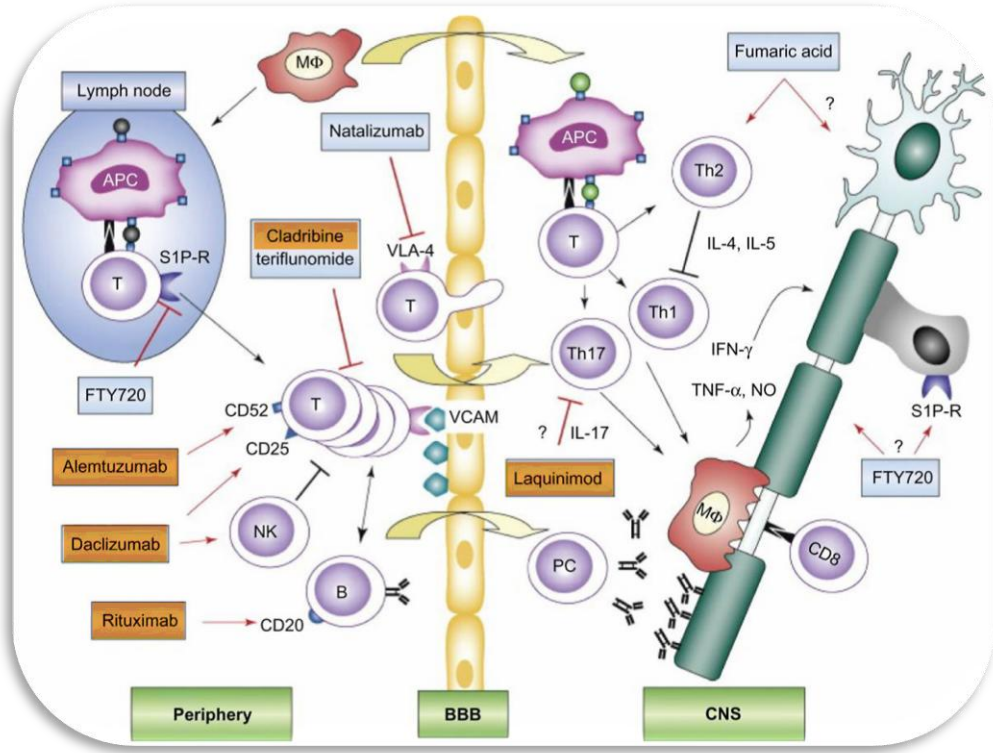
FTY720'nin ilk oral ilaç olması ve etkinliğinin yüksek olmasından dolayı bilim insanları daha fazla etkinliğe sahip, daha az yan etkili FTY720 türevi ilaçlar aramaktadır. Yapılan bir çalışma FTY720 ve türevi bileşiklerin immün hücrelerde TLR (Toll benzeri reseptör) sinyal yolağının düzenlediğini göstermiştir. Ruger ve arkadaşları FTY720'ye fosforik asit ve fosforus asit ekleyerek iki farklı türev elde etmişler ve bunların dendritik hücre kalsiyum homeostazisini ve TLR4 sinyalini ve antijene özgü CD4⁺ ve CD8⁺ lenfosit aktivasyonunu modüle ettiğini ve ayrıca ST2-EL4 hücrelerinin IL33 ile indüklenen sitokin üretimini azalttığını göstermiştir (Ruger ve diğ. 2014). Başka bir çalışmada FTY720'nin oksazolo-oksazol türevleri, endotel hücre permeabilitesini, immün hücre kemotaksisini ve EAE semptomlarını azalttığını göstermiştir (Imeri ve diğ. 2014). Bu iki türevin S1P3 ve fosfoinositid 3-kinazın aktivasyonu yoluyla endotel hücrelerine immün hücre yapışmasını azaltarak genel bir antienflamasyon potansiyeli sergilemektedir (Imeri ve diğ. 2015).

MS tedavisinde öncelerde kanser tedavisi için geliştirilmiş ancak sonradan MS hastalığında kullanılan FDA onaylı ilaçlar da bulunmaktadır. Bu ilaçlardan biri sentetik pürin nükleosit analogu Kladribin'dir (2-kloro-2'-deoksiadenosin). Kladribin, lösemi hastalığının tedavisi için piyasaya sürülmüştür, sonrasında MS tedavisi için kullanılmaya başlanmıştır. Pürin nükleosit taşıyıcıları aracılığıyla hücre içine alınır ve deoksisitidin kinaz tarafından fosforile edilerek sitotoksik haline dönüştürülür (Hartung ve diğ. 2010; Liliemark 1997). Her ne kadar kesin etki mekanizması tam olarak tespit edilmemiş olmasına rağmen, bulgular Kladribin'in deoksisitidin kinaz tarafından nükleotidkladribin trifosfat'a (2-kloro-2'-deoksiadenozin 5'-trifosfat-CdATP) fosforile olduğunu göstermektedir. CdATP, deoksisitidin kinaz seviyeleri yüksek ve deoksinükleotidaz düzeyleri düşük olan lenfositler gibi hücrelerde birikerek DNA zincir kırıklarının oluşumuna ve böylelikle DNA sentezi ve tamirinin inhibisyonuna neden olur. Yüksek CdATP düzeyleri aynı zamanda hücre trifosfat deoksinükleotid (dNTP) dengesinin bozulmasına bağlı olarak DNA zincirinde kırılmalara, DNA sentezi ve onarımının baskılanmasına, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) ve ATP azalmasına neden olarak lösemik ve neoplastik hücrelerin ölümüne neden olur. Ayrıca, kaspaz-3 ve -9 aktivasyonu ile

mitokondriyal aracılıklı intrinsik apoptotik yolağında aktivasyonunu sağlayarak apoptoza neden olduğu da gösterilmiştir (Liliemark 1997; Cai ve diğ. 2013; Singh ve diğ. 2012; Warnke ve diğ. 2010).

Aslında lösemi hastalığına karşı geliştirilen bir ilaç olan Alemtuzumab, NİMS formu için potansiyel tedavi olarak çalışılan bir monoklonal antikordur. T ve B lenfositlerinde çokça ifade edilen glikoprotein CD52 hücre yüzeyini hedefler. Başlangıç çalışmaları Alemtuzumab'ın bağışıklık sisteminin diğer hücrelerini korurken, MS'de hücre hasardan sorumlu olabilecek T ve B hücrelerini tükettiğini göstermiştir. En sık görülen yan etkileri baş ağrısı, ateş, mide bulantısı, solunum ve idrar yolu enfeksiyonudur.

Ayrıca, kortikosteroidler bazen atak sırasında bağışıklık baskılayıcı olarak NİMS için kullanılmaktadır. Şu anda onaylanmış tüm MS terapilerinin bir şekilde bağışıklık düzenleyici etkisi vardır ve bağışıklık aracılı miyelin yıkımını engelleme odaklıdır. Hâlbuki yeniden miyelinizasyon gibi zor olan nörodejenerasyonu önlemeye veya onarımı arttırmaya özgün ajanlara ihtiyaç vardır ve yeni çalışmalar bu alanları kapsamaktadır. Bu şekilde BİMS ve İNMS formları için de tedavi edici ajanlar olabilecektir. Şekil 3'de MS immunopatofizyolojisi ve kullanılan ilaçların etki mekanizmaları gösterilmektedir.

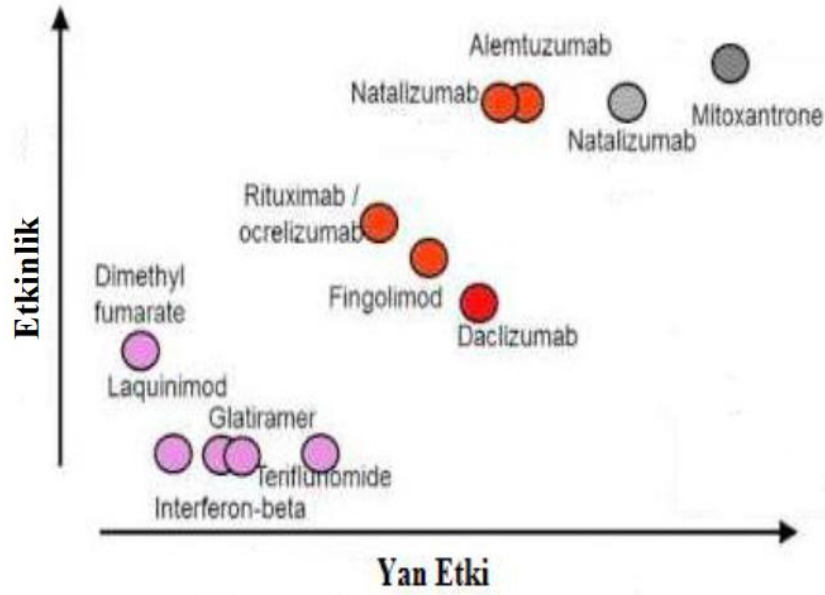


Şekil 3. NİMS immunopatolojisi ve ilaçların etki mekanizmaları (Barten ve diğ. 2010'dan alınmıştır)

Görüldüğü üzere güncel MS tedavileri nöksleri azaltma ve hastalığın ilerlemesini yavaşlatmada etkilidir, ancak bu tedaviler fonksiyonu geri kazandırıcı ya da koruyucu değildir. MS'de karşılanmamış ihtiyaçlar için tüm MS formlarında nöroprotektif veya remiyelinizasyon özelliklere sahip, gelişmiş etkinlik ve güvenlik profilleri gösteren yeni ajanlara ihtiyaç vardır.

2.5 Multipl Skleroz Tedavisinde Kullanılan İlaçların Güvenirliği

1993 öncesi MS'e etki edecek hiçbir ilaç yoktu ve hastaların büyük çoğunluğu önemli sakatlıklar ve kalıcı hasarlara maruz kalıyordu. Bununla birlikte günümüze kadar yapılan çalışmalar neticesinde artık oral kullanılan ilaçlar dahi olmasına rağmen şu ana kadar kullanılan ilaçlar arasında etkinliği iyi olup yan etkisi az olan bir ilaç halen yoktur yani hastalığın kesin tedavisi yoktur ve çalışmalar halen devam etmektedir (Coles 2005). Bununla birlikte, günümüzde MS'in semptomatik tedavisinde kullanılan, hastalığı modifiye edici ilaçlar etkinlik ve güvenilirlik yönünden dikkate alınmalıdır (Şekil 4).



Şekil 4. Etkinlik ve güvenilirliğine göre Multipl Skleroz için kullanılan ilaçların sınıflandırılması (Coles 2005).

2.6 G Proteine Bağlı Reseptörler (GPCR)

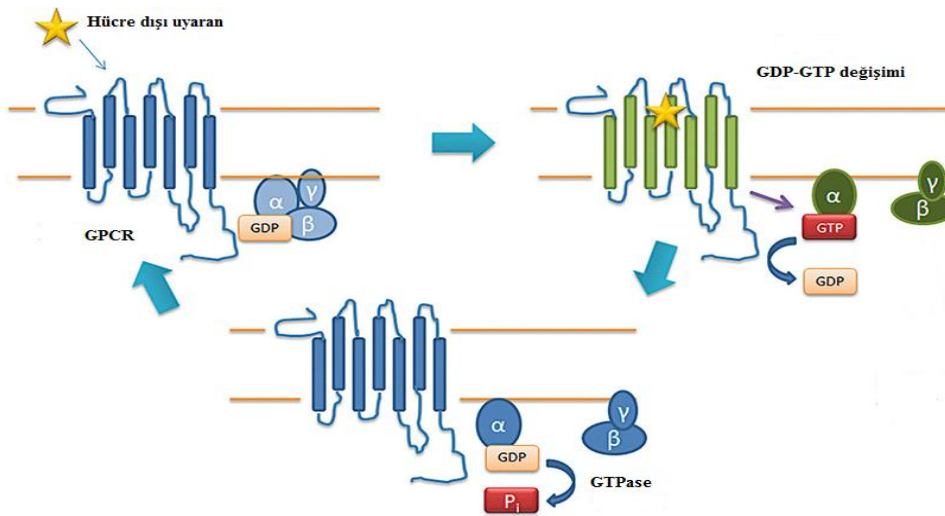
İnsan genomunda yaklaşık 800 farklı gen tarafından kodlanan G protein-bağlı reseptörler (GPCR) bilinen en geniş sinyal proteini ailelerinden birini oluşturmaktadır. Bu reseptörler çeşitli uyarılar (odorant moleküller, peptitler ve peptit olmayan nörotransmitterler, hormonlar, büyüme faktörleri ve lipitler vs.) ile aktive olurlar (Marinissen ve Gutkind 2001). Günümüzde kullanılan ilaçların %50'sinin hedefi durumundadır. Bu nedenle, GPCR ailesi ilaç araştırma ve geliştirme çalışmalarında oldukça yoğun biçimde incelenmektedir. Çeşitli çalışmalar GPCR ailesinden olan adenosin reseptörleri, adrenerjik reseptörler, kanaboid reseptörler, kemokin reseptörleri, lökotrien reseptörleri, opioid reseptörler, sfingozin 1 fosfat reseptörleri ve daha birçok reseptörün MS patogenezinde önemli rol oynadığını göstermiştir (Du ve Xie 2012; Spiegel ve Milstien 2000; Vallejo ve diğ. 2004; Sacerdote 2006; Bajetto ve diğ. 2001).

G proteini alfa ($G\alpha$), beta ($G\beta$) ve gama ($G\gamma$) alt birimlerinin birleşmesinden oluşan heterotirimerik yapıda bir proteindir. İnsan genomunda $G\alpha$ 'nın 21 farklı, $G\beta$ 'nin 6 farklı, $G\gamma$ 'nin 12 farklı alt ünitesi bulunmaktadır. Her bir G proteini içerdiği

α alt birimine göre karakterize edilir ve Gs, Gi, Gq ve G12 olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır. Tüm alfa alt birimleri helikal ve GTPaz bölgesinden oluşur. GTPaz bölgesi evrimsel olarak korunmuştur (Downes ve Gautam 1999). Ayrıca proteinin GTPaz bölgesi GTPaz aktivitesi içermesinin yanı sıra $G\beta\gamma$ alt birimlerinin, reseptörün ve efektör proteinlerin α alt ünitesine bağlanması için alan oluşturmaktadır. Helikal bölge ise G proteinlerinin α alt biriminde bulunur. Çeşitli mutasyon çalışmaları bu bölgenin proteinin aktivasyon mekanizmasında önemli rol oynadığını göstermiştir (Oldham ve Hamm 2006).

G proteinleri reseptörden aldıkları sinyalleri kenetli oldukları efektör proteinlere aktarırlar. Gq fosfolipaz C enzimini aktive ederek inositol-3-fosfat ve diaçilgliserol oluşumuna neden olur. G12 proteinleri, JNK yolağını aktifleyerek sinyalleri iletmektedirler. Gi, adenilat siklaz enzimini inhibe ederek hücre içi cAMP miktarının azalmasına neden olurken, Gs proteini, adenilat siklaz enzimini aktive ederek hücre içi cAMP sentezinin artmasına neden olur (Kukkonen ve diğ. 2001; Juneja ve Casey 2009).

G proteini hücre membranının iç yüzünde uyarının olmadığı zaman $G\alpha$ alt ünitesinde guanozin difosfat (GDP) bağlı inaktif durumda heterotrimerik formda bulunmaktadır. Hücre dışı bir uyarın ile aktive olduğunda reseptör G proteini ile etkileşir ve $G\alpha$ alt ünitesindeki GDP, GTP ile yer değiştirir. GTP'nin $G\alpha$ alt ünitesine bağlanması ile G proteini $G\alpha$ (GTP) ve $G\beta\gamma$ olarak ikiye ayrılır. Bundan sonra $G\alpha$ (GTP) ve $G\beta\gamma$ ayrı ayrı çeşitli efektör proteinler ile (adenilat siklaz, fosfolipaz C vs.) etkileşerek bu proteinlerin aktivitelerini düzenlerler (Şekil 5).



Şekil 5. G proteinin aktivasyonu

Sinyal proteininin kendi GTPaz aktivitesi ile $G\alpha$ alt birimine bağı GTP'nin GDP'ye hidrolize olması ve α ve $\beta\gamma$ alt birimlerinin yeniden birleşmesiyle sonlandırılır. Ortamda aktif reseptör bulunduğu sürece ve bir uyarın olduğu sürece bu döngü devam eder (Gilman 1987; Oldham ve Hamm 2006). G proteininin aktivasyon ve inaktivasyon döngüsünün düzenlenmesiyle ilgili son yıllarda yapılan çalışmalarda “Regulator of G protein Signaling” (RGS) ve “Activator of G protein Signaling” (AGS) gibi proteinlerin de rol oynadığını göstermiştir (Dohlman ve Thorners 1997).

2.7 Tezin Amacı

İlaç kullanımlarında görülen yan etkiler ve ekonomik nedenlerden dolayı bilim adamları ve özel sektör çalışanları yeni ilaç arayışına girmişlerdir. Bu amaçla bu tezde FTY720 türevi bileşikler teorik çalışmalar (docking) ile belirlenip sentezlendikten sonra biyolojik etkinlikleri incelenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin MS hastalığına karşı etkileri insan nöroblastom hücre hattında S1P reseptörlerine bağlanmaları, S1P ile aynı aileden (GPCR) olan diğer reseptörlere bağlanmaları ile aynı zamanda MS ile ilgili olduğu bilinen bir dizi diğer gen üzerine olan etkileri test edilerek belirlenmiştir (Cyster ve Schwab 2012; Bode ve Gräler 2012; Whitney ve diğ. 1999; Lock ve diğ. 2002; Mycko ve diğ. 2003; Tran ve diğ. 2002; Zhou ve Elledge 2000; Schulze-Osthoff ve diğ. 1998; Green 2000; Kranenburg ve Moolenaar 2001; Marinissen ve Gutkind 2001; Emanuelsson ve Norlin 2012).

Bu tezde, MS çalışmalarında uygunluğu literatürde çeşitli çalışmalar ile gösterilmiş olan hücre hattı (insan nöroblastom-SK-N-SH) kullanılmıştır. Bu amaçla FTY720 türevi bileşikler için öncelikle GPCR aracılı immünmodülatör /immüsupresif etkileri belirlemek üzere S1P ailesini de içeren 84 adet gen üzerine etkileri belirlenmiştir çünkü immünmodülatör/immüsupresif ajanlar için bu reseptörler temel araçlardır. Aynı hücre hatlarında eş zamanlı olarak, hücre içi cAMP ve CRE (cAMP yanıt elementi) miktarı ölçülerek değişik etki düzeyleri de saptanmıştır. Böylelikle daha kesin veriler elde edilmesi sağlanmıştır çünkü bu bileşiklerin temel mekanizması bu yolak üzerinden gerçekleşmektedir. Daha sonra da MS üzerine biyolojik etkinlikleri saptamak amacıyla yine aynı hücrelerde MS ile ilişkisi saptanmış olan 84 adet genin ifade düzeyleri belirlenmiştir. Böylelikle, ilk

aşamada reseptör ilişkisi saptanan bileşiklerin MS ilişkisi de netleştirilmiş ve tam tanımlanmıştır.

Bu tez ile birlikte antagonist, antitümör, immünsüpresif gibi etkiler gösterebilecek, etkinliği yüksek, yan etkileri mevcut diğer ilaçlara göre az olan sfingolipid türevi ilaçların literatüre kazandırılması amaçlanmaktadır. Ayrıca uzun vadeli hedefler arasında bu spingolipid türevi ilaçların üretimini ticari ölçeye getirerek Türk ilaç sektörüne sunmak yatmaktadır. Literatürde benzer olarak sentezlenmiş bileşikler bulunmasına rağmen önerilen bileşiklerin tamamı yenidir. Ayrıca, sentezlenmiş benzer bileşiklerin bu tez önerisinde ortaya konulduğu gibi geniş biyolojik etkinlik çalışmaları da genelde yapılmamış çok az sayıdaki parametre (genelde ana etkinlik yöntemleri) ile değerlendirilmiştir.

Çok yaygın bir şekilde görülmekte olan MS hastalığının günümüzde tam olarak bir tedavisi bulunmamaktadır. Bu açıdan yeni tedavi yöntemleri ve mevcut ilaçların iyileştirilmesi oldukça önem taşımaktadır. Ayrıca MS hastalığının tedavisinde kullanılabilir yeni ilaçların bu tür sentezleriyle ilgili herhangi bir çalışma ülkemizde yapılmamaktadır. Sentezlenecek bileşiklerin biyoetkinliklerinin incelenmesi sonucu olumlu özellikleri olanlar, daha ileri araştırmaların ardından MS hastalığının tedavisinde kullanılabilir yeni ilaç hammaddeleri olarak literatürde yer alabileceklerdir.

3. MATERYAL VE METHOD

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Fetal Dana Serumu (Sigma-Aldrich, F9665), Tripsin-EDTA (Sigma-Aldrich, T4049), Kilo Green 2X qPCR Master Mix (ABM, ET795249), EMEM (Sigma-Aldrich, M4655), Penisilin-Streptomisin (Sigma-Aldrich, P4333), FuGENE HD Transfeksiyon Kiti (Promega, E2311), Dual-Glo Lusiferaz (Promega, E2920), Qiagen RNeasy Plus Universal Kit (73404), Easy Script Plus cDNA Sentez Kiti (ABM, G236), 100 bç DNA Yürütme Boyası (Fermentas, SM0323), 6X DNA İzleme Boyası (10 mM Tris-HCL, %0,03 Bromfenol Blue, %0,03 Ksilen Siyanol FF, %60 Gliserol, 60 mM EDTA ile 10 ml olacak şekilde hazırlandı), Agaroz (Sigma, A9539), DEPC (Sigma, D5758), Etanol (Riedel, 071029) (%70 konsantrasyonunda etanol kullanılmıştır), Etidyum Bromür (Sigma, E8751), Asetik Asit (Sigma, 27225), Bromfenol Mavisi (Sigma, B6131), Trizma Base (Sigma, A2264), Ksilen Siyanol FF (Sigma, X4126), EDTA (Sigma, 03620), Gliserol (Sigma, G2289), Kloroform (Sigma, C2432), Forskolin (Santa Cruz, sc3562), Dimetilsülfoksit (DMSO) (Sigma, D4550), Kristal Viyole (Fluka, 61135), Sodyum Sitrat (Sigma, S1804), Hidroklorik asit (HCl) (Riedel, 7102), cAMP Direct Immunoassay Kit (BioVision, K371)

3.2 Method

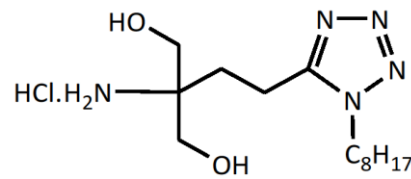
3.2.1 ‘DOCK’ Çalışmaları ve FTY720 Türevi Bileşiklerin Sentezi

MOE bilgisayar programı (sürüm 2013.0802, Chemical Computing GroupInc., Montreal, Kanada) kullanılarak toplam 62 FTY720 serisi molekülünün

3D yapıları oluşturuldu. Moleküller ‘docking’ çalışmaları için uygun multi-mol2 dosyasına çevrildi. RCSB protein veri bankasından (Protein Data Bank; PDB veri bankası) 2 adet hS1P1R kristal yapısı elde edildi. Moleküler modelleme çalışmalarımızda FTY720 seri maddeleri, iki hS1P1R kristal yapılarına GOLD Suite programı (sürüm 5.2, CCDC, Birleşik Krallık) ve ChemScore fonksiyonu (scoringfunction) kullanılarak ‘dock’ edildi. ‘Docking’ sonuçları ligand seçme kriterlerine göre inceledi ve hS1P1R’ye karşı yüksek ilgi duyması öngörülen maddeler sentez için seçildi. Sentezleri tasarlanmış bileşik için yapılan bilgisayarlı hesaplamalar sonucu etkin olma olasılığı ortaya çıkan bileşik sentezlendi.

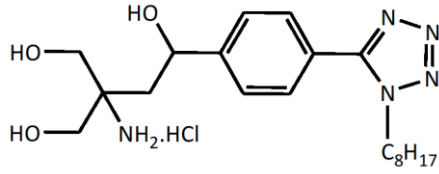
‘Dock’ çalışmaları Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalında Doç. Dr. Atilla Akdemir’in laboratuvarında, FTY720 türevi bileşiklerin (F1-12h (2-amino-2-(2-(1-oktil-1H-tetrazol-5-il)etil)propan-1,3-diol hidroklorür) ve F2-9 (3-amino-3-(hidroksimetil)-1-(4-(1-oktil-1H-tetrazol-5-yl)fenil)butan-1,4-diol hidroklorür)) sentezi Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Ana bilim dalında Prof. Dr. Yılmaz Yıldırım’ın laboratuvarında, biyolojik etkinlik çalışmaları Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Prof. Dr. Alaattin ŞEN’in Moleküler Toksikoloji ve Biyokimya laboratuvarında gerçekleştirildi. Hesaplanan teorik sonuçlara göre etkin çıkan bileşiklerin yapısı Şekil 6 ve 7’de, sentezi Şekil 8 ve 9’da verildi.

Hesaplamalı Teorik Sonuçlara Göre Etkin Çıkan Bileşikler:



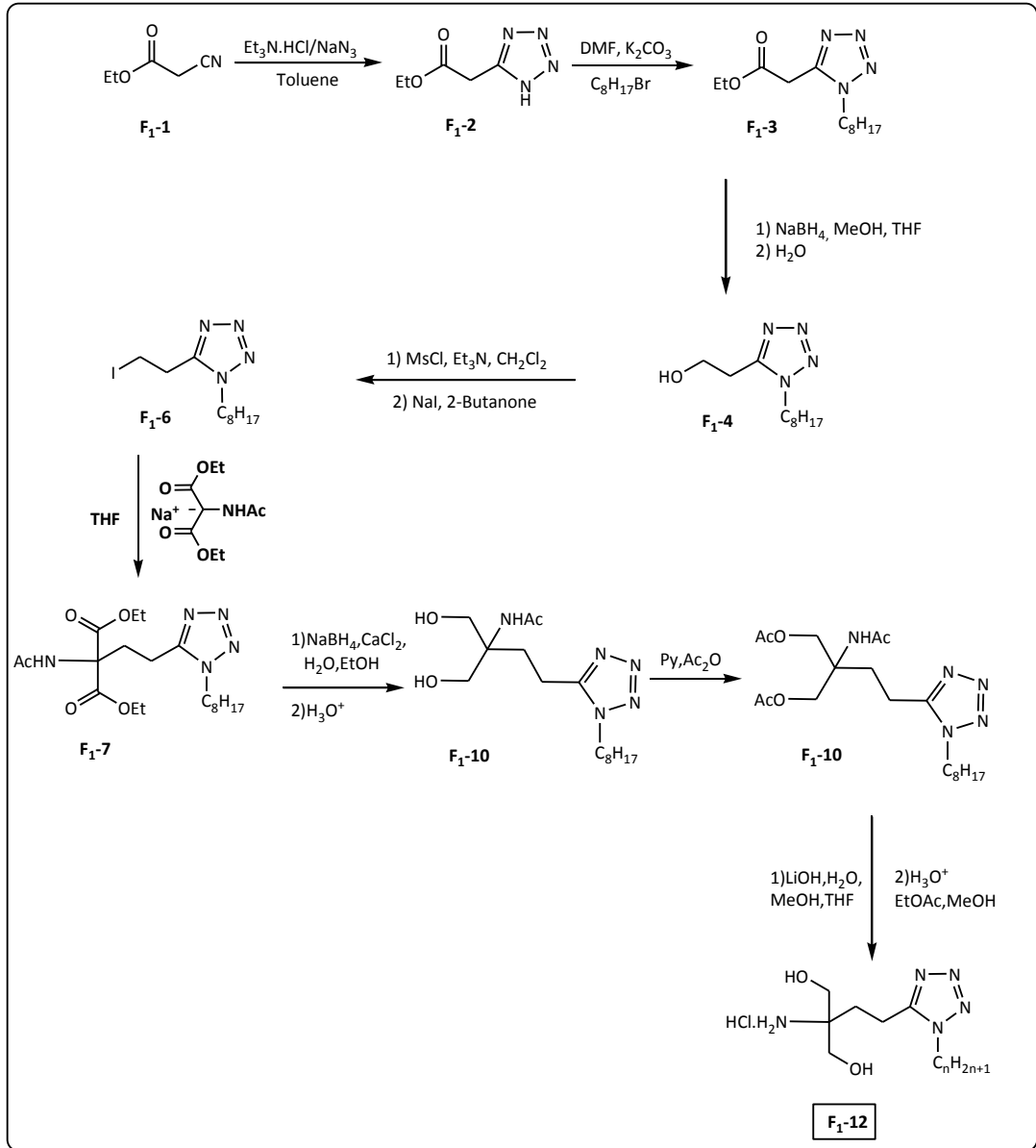
F₁-12(11)

Şekil 6. F1-12h yapısı

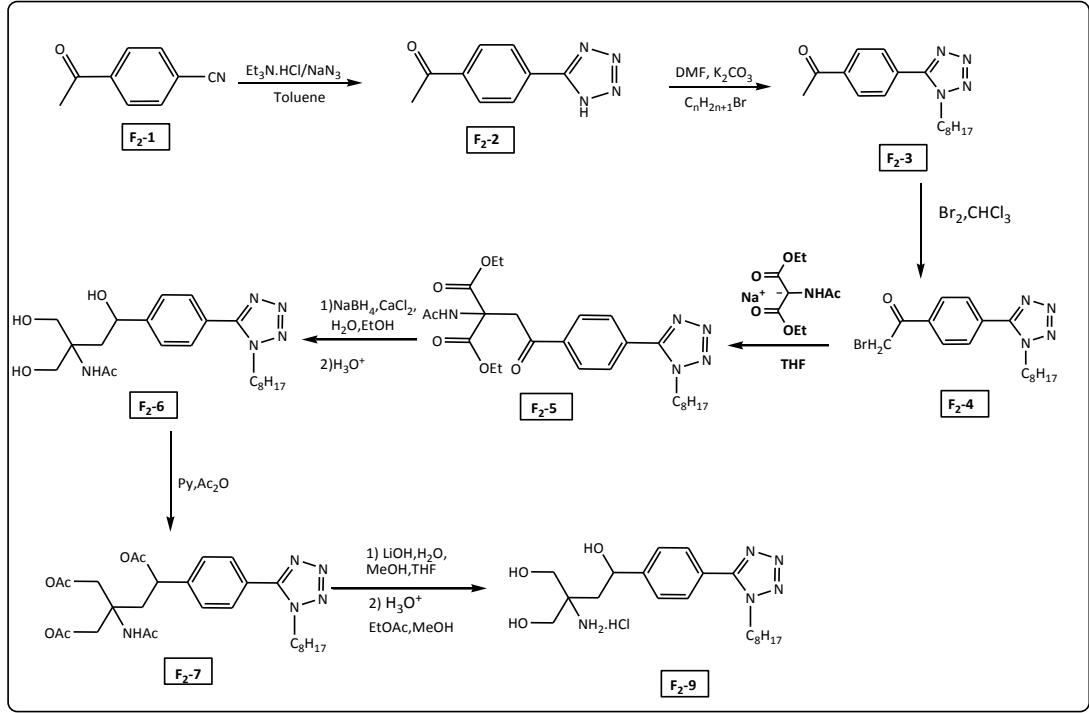


F₂-9

Şekil 7. F2-9'un yapısı



Şekil 8. F1-12h'nin sentezi, 2-amino-2-(2-(1-oktil-1H-tetrazol-5-il)etil)propan-1,3-diol hidroklorür.



Şekil 9. F2-9h sentezi, 3-amino-3-(hidroksimetil)-1-(4-(1-oktil-1H-tetrazol-5-yl)fenil)butan-1,4-diol hidroklorür.

3.2.2 Hücre Kültürü Çalışmaları

3.2.2.1 Besiyeri Hazırlanışı

Tezde kullanılan hücre hatları, üretici firma, ürün numarası, hücre hattının elde edildiği organizma ve doku, büyüme özelliği, kullanılan besiyeri, antibiyotik ve serum ihtiyacı, saklama koşulları Tablo 1’de verildi.

SK-N-SH (insan nöroblastom hücre hattı) ve HEK-293 (insan embriyonik böbrek hücre hattı) hücreleri için EMEM besiyeri hazırlandı. Besiyerinin içine %1 antibiyotik (Penisilin-Streptomisin) ve %10 Fetal Dana Serum (FBS) ilave edildikten sonra +4°C da saklandı. Besiyeri kullanılmadan 30 dakika önce +4°C’den çıkartılıp 37°C olan su banyosunda ısıtılıp kullanıldı.

Tablo 1. Tezde kullanılan hücre hatları, özellikleri ve ihtiyaçları

Firma	Ürün Numarası	Organizma	Hücre Hattı	Doku	Büyüme Özelliği	Besiyeri	Antibiyotik	FBS	Saklama
ATCC	HTB-11	İnsan	SK-N-SH	Nöroblastom	Adherent	EMEM	% 1	% 10	%5 DMSO
ATCC	CRL-1573	İnsan	HEK-293	Embriyonik Böbrek	Adherent	EMEM	% 1	% 10	%5 DMSO

3.2.2.2 Hücrelerin Büyütülmesi

Deneilerimizde kullandığımız hücre hatları haftada iki kez düzenli pasajlandı. Üretim sırasında kontaminasyonu önlemek amacıyla filtre kapaklı hücre kültür kapları kullanıldı. -80°C’de %10 Dimetilsülfoksit’te (DMSO) kuru buz içerisinde donmuş olarak gelen hücreler, 37°C’de eriyene kadar bekletilip, eridikten sonra hücre kültür kaplarına ekildi ve üzerine 10 ml uygun besi ortamı eklenerek 37°C’de, %5 CO₂ ve %95 nem içeren ortamda 1 gün inkübe edildi. Ertesi gün DMSO’dan kurtarmak için hücre kültür kaplarındaki besiyeri değiştirildi. Besiyeri pipetle uzaklaştırıldıktan sonra hücreler bir kez Ca⁺⁺ ve Mg⁺⁺ tuzları içermeyen steril PBS (Fosfat tamponlu tuz çözeltisi) ile yıkandı.

3.2.2.3 Hücrelerin Pasajı

Hücrelerin çoğaltıldığı kültür kaplarında, hücreler tek tabaka olduklarında pasajları yapıldı. Pasaj işlemi için öncelikle kültür besiyeri uzaklaştırıldı. Daha sonra hücreler 2 ml %0,25’lik tripsin ile yaklaşık 5 dakika muamele edildi ve hücrelerin yüzeyden ayrılmaları sağlandı. Süspansiyon haline getirilen hücreler steril santrifüj tüpüne alındıktan sonra tripsinin inaktif hale gelmesi için üzerine 2 ml uygun besiyeri eklendi. Pelet üzerine 1 ml besi ortamı eklenerek, ependorfta hazırlanan trapan mavisi (1:1000) ve hücre karışımı (1:1) thoma lamında sayıldı ve hücreler deney planına göre ekim için hazır hale getirildi.

3.2.2.4 SK-N-SH Hücrelerinde Sitotoksosite Çalışmaları

Hücrelerinin büyüme ve gelişmesi sağlanıp, yeterli stok sayısına ulaşıldıktan sonra bu hücreler kullanılarak sitotoksosite çalışmaları gerçekleştirildi. FTY720, F1-12h ve F2-9 bileşikleri sitotoksosite deneyi için uygun çözücü (su) ile çözüldükten sonra steril etmek için 0,2 mikronluk filtrelerden geçirildi. Bileşikler 9 farklı konsantrasyonda (0,25 µM; 0,5 µM; 0,1 µM; 2,5 µM; 7,5 µM; 10 µM; 12,5 µM; 15 µM; 20 µM) hazırlandı ve uygulandı. Kontrol grubu hücrelerine ise sadece uygun besiyeri kullanıldı. FTY720, F1-12h ve F2-9 bileşikleri için çalışmalar SK-N-SH hücre hattında gerçekleştirildi.

Sitotoksosite için büyütülen yapışan hücreler tripsin ile kaldırıldı. Tripsin ile kaldırılmış olan hücreler 15 ml'lik steril tüplere alınıp, 2.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atılıp, dibe çöken hücreler 1 ml besiyeri içinde çözülüp, ependorfta hazırlanan trapan mavisi ve hücre karışımı (1:1) thoma lamında sayıldı. Hücre sayısı hesaplandıktan sonra her kuyucukta 1×10^3 hücre olacak şekilde 96 kuyulu plakalara ekildi ve plakaların üzeri toplamda 200 μ l olacak şekilde besiyeri ile tamamlandı ve 24 saat hücrelerin plakaya yapışması için %5'lik CO₂ inkübatöründe, %95 nem ortamında bekletildi.

Hücreler plakaya yapıştıktan sonra 9 farklı konsantrasyonda hazırlanmış FTY720, F1-12h ve F2-9 24 saat hücrelere maruz bırakıldı. 24 saatin sonunda 96 kuyulu plakadaki besiyeri uzaklaştırıldı. Her kuyucuk 100 μ l kristal viyole ile boyanıp 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Plaka çeşme altında tutularak boya uzaklaştırıldı. Her kuyucuğa 100 μ l 0,1 M %50 etanol içindeki sodyum-sitrat eklendi ve 15 dakika 100 rpm'de çalkalandı. Oluşan renk 630 nm'de plaka okuyucuda okundu.

Değişik konsantrasyonlardaki bileşikler ile muamele ettiğimiz gruplar kontrol grubu ile karşılaştırarak, değişik dozların hücre canlılığına olan etkileri saptandı. Deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Biyoetkinlik testlerinde kullanılacak toksik olmayan en yüksek güvenilir dozu olan EC05 ve EC10 dozlarının kullanılmasına karar verildi.

3.2.2.5 SK-N-SH Hücre Hattına Bileşiklerin Uygulanması

SK-N-SH hücrelerinde FTY720, F1-12h ve F2-9'un EC05 ve EC10 değerleri sitotoksosite deneyi ile belirlendikten sonra bu dozların uygun hücre hatlarında belirlenen MS ve GPCR genlerinin ekspresyon düzeylerindeki etkisini test etmek, cAMP aktivesini ve miktarını belirlemek için bileşikler hücre kültürü ortamında steril şartlarda hücrelere uygulandı. Bunun için 10 mm petrilere 10^6 hücre ekildi ve bir gün inkübasyonun ardından belirlenen dozlar bu hücrelere uygulandı. 24 saatin sonunda hücreler deney prosedürüne uygun olacak şekilde toplandı.

3.2.2.6 RNA İzolasyonu

RNA, “Qiagen RNeasy Plus Universal Kit” kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda izole edildi. RNA izolasyonu için hücreler uygulama yapıldıktan 24 saat sonra 600 µl ‘Qiazol Lysis Reagent’ ile toplandı. ‘Qiazol Lysis Reagent’ ile toplanan hücreler 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra üzerine 100 µl kit içinde bulunan ‘gDNA Eliminator’ solüsyonundan eklendi ve 15 saniye karıştırıldı. Daha sonra 180 µl kloroform eklenip ve tekrar karıştırıldıktan sonra 3 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Süre sonunda 12.000 xg’de ve +4°C’de 30 dakika santrifüj edildi. Üst faz 2 ml’lik steril ependorf tüpe toplandı ve alınan üst faza eşit miktarda %70 etanol eklenip iyice karıştırıldı. Karışım ‘RNeasy mini spin’ kolona eklendi ve 30 saniye 9.000 xg’de santrifüj edildi ve alta geçen kısım döküldü. Kolunun üzerine 700 µl kit içinde bulunan yıkama tamponu ‘RWT’ eklendi ve 30 saniye 9.000 xg’de santrifüj edildi. Alta geçen kısım dökülüp kolonun üzerine 500 µl kit içinde bulunan yıkama tamponu ‘RPE’ eklendi ve 30 saniye 9.000 xg’de santrifüj edilip, alta geçen kısım döküldü. Kolon üzerine tekrar RPE tamponu eklendi ve 2 dakika 30 saniye 9.000 xg’de santrifüj edildi ve alta geçen kısım döküldü. Son olarak kolon yeni tüpe alındı ve üzerine 50 µl RNaz içermeyen su eklendi ve 1 dakika 15 saniye 9.000 xg’de santrifüj edildi. Elde edilen RNA kalitesi agaroz jel elektroforezinde görüntülendi ve konsantrasyonları nanodrop (MaestroNano) cihazında ölçüldü.

3.2.2.7 Total RNA’nın Agaroz Jel Elektroforezi İle Görüntülenmesi

İzole edilen RNA’lar %1’ lik agaroz jel hazırlanarak Thermo yatay agaroz jel elektroforezi ile yürütüldü. %1’ lik agaroz jel, Tris-Asetik asit-EDTA (TAE) tamponu ile hazırlandı. Agaroz çözünene kadar mikrodalga fırında kontrollü bir şekilde ısıtma işlemi yapıldı. Çözünme işleminden sonra agaroz solüsyonu soğutularak üzerine 1 µL Etidyum bromür (EtBr) eklendi ve elektroforez tablasına dökülerek katı hal oluşuncaya kadar beklendi. Katı hal alan agaroz jel, elektroforez tankına kuyucuklar RNA’nın ‘- den +’ ya yürüebilmesi için elektroforezin (-) kutbuna doğru yerleştirildi. Elektroforez tankı RNA’yı yürütmek için 1X TAE yürütme tamponuyla dolduruldu. 3 µL RNA örneği, 5 µL steril su ve 2 µl yürütme

boyası ile muamele edilerek mikropipet ile jelde bulunan kuyucuklara yüklendi. Elektroforez güç kaynağına bağlandı ve 90 volt, maksimum 500 mA'de 45 dakika boyunca yürütüldü. Yürütme bitince jel UV transilluminatörde görüntülenip 'DNR LightBis ProImage Analysis System' (DNR BioImaging System Ltd. Jerusalem, Israel) cihazında fotoğraflandı.

3.2.2.8 cDNA sentezi

cDNA sentezi 'Easy Script Plus cDNA sentez kiti' ile oligo d(T) primeri ve Ters Transkriptaz enzimi (RT) kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirildi. cDNA sentez karışım prosedürü Tablo 2'de verildi. Karışım hazırlandıktan sonra cDNA sentezi için 50°C'de 1 saat inkübe edildi ve süre sonunda, enzimi inhibe etmek için 85°C'de 5 dakika bekletildi. Sentezlenen cDNA'lar, RT-PCR yapmak üzere -80°C muhafaza edildi.

Tablo 2. cDNA sentez karışımı

	Hacim	Son konsantrasyon
Total RNA	Değişken	2 µg
Oligo(dT) Primer	1 µl	0,5 µM
dNTP karışımı (10 mM)	1 µl	500 µM
5 X RT tamponu	4 µl	1 X
Easyscript plus RTase (200U/µL)	1 µl	200 U
RNAaz içermeyen su	Değişken	-
Son hacim	20 µl	-

3.2.2.9 Primer Dizaynı

Literatür, GenBank/EMBL veri bankaları ve Harward primer bank taranarak MS ve GPCR genleri ile ilişkili olduğu bilinen uygun primer dizileri belirlendi. Pubmed'in nükleotit blast bölümünde taranıp erişim numaraları belirlendi. Güvenirliği artırmak için Pubmed'in primer blast bölümünde erişim numaraları ile uygun organizma seçilip tarandı. Sıcaklık genellikle 57⁰-60⁰C seçildi. Yanlış eşleşme yapıp yapmadığına, GC oranının %50 üzerinde olmasına dikkat edildi. Seçilen primerlerin en fazla 300 bp büyüklüğünde olması sağlandı. Yanlış yapmamak için

Pubmed'in primer blast bölümü tekrar açılıp forward ve revers primer yazıldı, organizma seçildi ve doğru gen bölgesi olup olmadığı kontrol edildi. Her bir gen için tek tek bu işlem yapılmasına rağmen yaklaşık 30 adet gen doğru bölgelere bağlanmadı ve yeniden başka diziler taranarak yukarıdaki işlem tekrar edildi. İkinci tekrardan sonra yaklaşık 10 adet gen yine çalışmadı ve işlem tekrar edildi ve tüm genler çalıştı. Primer dizaynı ve sentezi için yaklaşık 6 ay zaman harcandı. Primer sentezi Sentromer (Alfagen) firmasına yaptırıldı. Primerlerin isimleri Ekler Tablo A.1 ve Tablo A.2'de, bu primerlerin nükleotid dizileri, uzunlukları, kodları ve yapışma sıcaklıkları Ekler Tablo A.3 ve Tablo A.4'de verildi.

3.2.2.10 Kantitatif Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR)

Belirlenen genlerin mRNA düzeyleri qRT-PCR yöntemi ile kantite edildi. Bu amaçla genler için ayrı ayrı polimeraz zincir reaksiyonu sıcaklıkları optimize edildi. Tüm genler için kopya sayısı döngü sayısı ilişkisinin doğrusal olması için döngü sayısı 35 olarak belirlendi. PCR koşulları Tablo 3'de; sıcaklık, döngü ve zamanları ise Tablo 4'de verildi. PCR reaksiyonu için ABM firmasının ürettiği 'KiloGreen 2X qPCR Mastermix' kullanıldı.

PCR ürünlerinin 10 µl'si %1'lik agaroz jelde 90 Volt, maksimum 500 mA'de 45 dakika süresince yürütüldü ve yürütme bitince jel UV transilluminatörde EtBr boyamayla bantlar gözlemlenip DNR LightBis ProImage Analysis System (DNR BioImaging System Ltd. Jerusalem, Israel) cihazında fotoğraflandı.

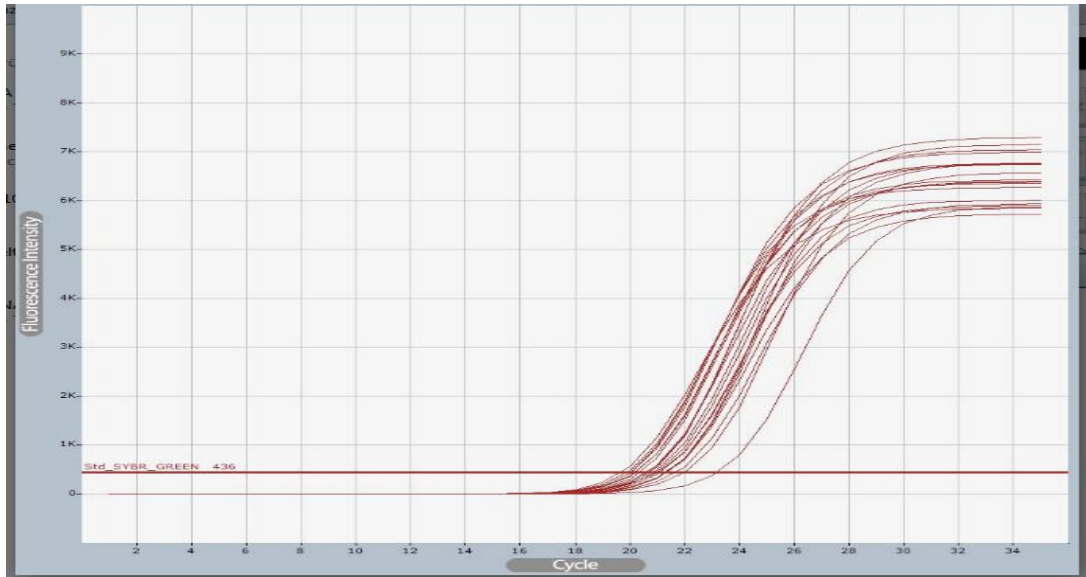
Tablo 3. RT-PCR koşulları

PCR	Reaksiyon Karışımı
Kilo Green 2X Master Mix	12,5 ml
İleri Primer	0,6 ml
Geri Primer	0,6 ml
cDNA	5 ml (1:10 seyreltilmiş)
dH ₂ O	1,3 ml

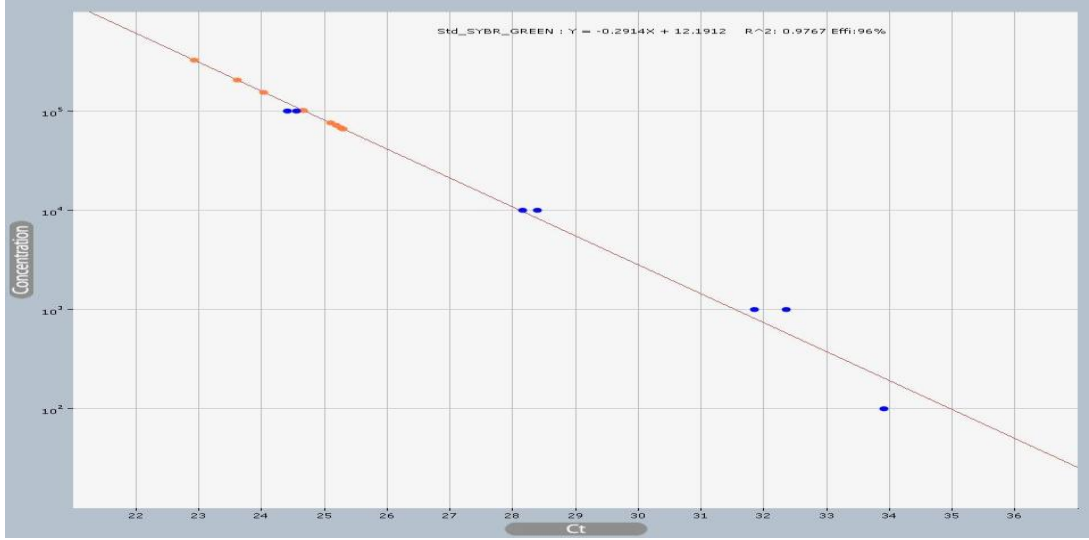
Tablo 4. PCR sıcaklık, döngü ve zamanları

	PCR Koşulları
Ön Denatürasyon	94 ⁰ C 5 dakika
Denatürasyon	94 ⁰ C 1 dakika
Yapışma	X ⁰ C 1 dakika
Uzama	72 ⁰ C 1 dakika
Döngü Sayısı	35 Döngü

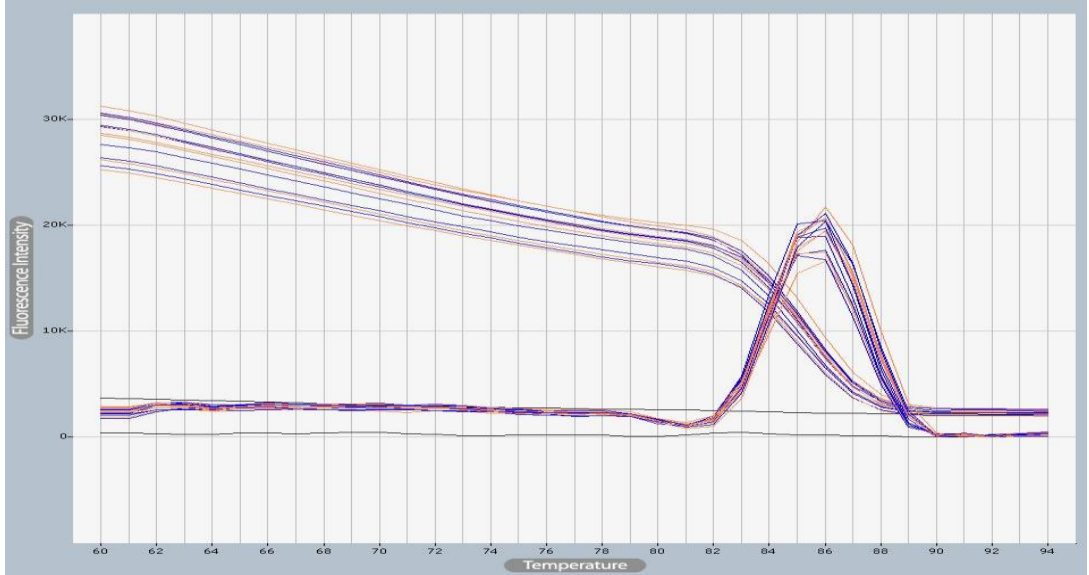
Gerçek zamanlı PCR sonucunda elde edilen sonuçlar Exicycler 3 programı kullanılarak analiz edildi ve ‘house keeping’ gen olan beta aktin (ACTB), Beta-2 mikroglobulin (B2M) ve Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) kullanıldı. Sonuçlar ACTB’ye göre normalize edildi. Her gen için ayrı ayrı amplifikasyon analizi ile standart kalibrasyon eğrisi oluşturuldu ve erime eğrisi analizleri yapıldı (Şekil 10-12). Amplifikasyon sonucunda elde edilen Ct (threshold) değerleri kullanılarak genlerin mRNA ekspresyon düzeylerinde bileşiklerin uygulaması sonucunda meydana gelen değişimler belirlendi.



Şekil 10. Amplifikasyon eğrisi



Şekil 11. Standard kalibrasyon eğrisi



Şekil 12. Erime eğrisi analizi

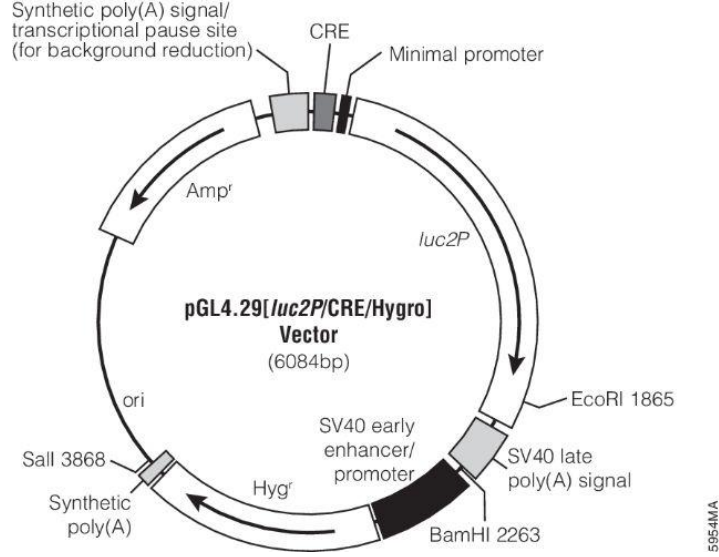
3.2.2.11 Hücre içi cAMP Düzeyinin Belirlenmesi

cAMP tayini üretici firmanın (BioVision) önerdiği talimatlara göre gerçekleştirildi. Buna göre hücrelere FTY720 ve türevi bileşikler SK-N-SH hücrelerine uygulandıktan 24 saat sonra 1 ml 0,1 M HCl eklenip, 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra hücre toplayıcı ile hücreler toplandı, pipetaj yaparak hücrelerin homojen olması sağlandı. En yüksek hızda 10 dakika santrifüj edildi, süpernatant kullanıldı. Örneklerden 100 µl ependorf tüplere koyuldu. Her tüpe

kit içinde bulunan ‘Neutralizing Buffer’ dan 50 µl eklendi. ‘Acetylyating Reagent Mix’ hazırlandı ve her tüpe 5 µl eklendi. Koyar koymaz 2-3 saniye karıştırıldı ve 10 dakika oda sıcaklığında beklendi. 845 µl ‘1 X Assay Buffer’ her tüpe eklendi. Örneklerden protein G kaplı 96 kuyulu plakaya 50 µl eklendi. 10 µl ‘Reconstituted cAMP’ her kuyuya eklendi. Hafif çalkalanarak 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Her kuyuya 10 µl cAMP-HRP eklendi. Hafif çalkalanarak 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. 200 µl ‘1 X Assay Buffer’ eklenerek kuyular yıkandı. Bu işlem 5 defa yapıldı. 100 µl ‘HRP developer’ eklendi ve 1 saat oda sıcaklığında çalkalandı. Reaksiyonu durdurmak için 100 µl 1 M HCl eklendi ve 450 nm’de plaka okuyucuda okundu. Deneyde kontrol olarak forskolin kullanıldı. Forskolin 100 mM ana stok DMSO içinde hazırlandı. Buradan hücelere son konsantrasyon 0,1 mM olacak şekilde uygulandı.

3.2.2.12 Lusiferaz Deneyi

cAMP yanıt elementi (CRE)’nin aktivitesini belirlemek amacıyla CRE ve lusiferaz normalizasyonu için Renilla geni içeren pGL4.29 [luc2P/CRE/Hygro] plazmiti (Şekil 13) ‘Fugene HD’ reaktifi kullanılarak HEK293 hücelerine transfekte edildi. 24 saat transfeskiyon sonunda hücelere FTY720 ve türevleri uygulandı. Pozitif kontrol olarak forskolin kullanıldı. 18 saat stimülasyon sonrası Dual-Glo Lusiferaz deney sistemi ile lusiferaz ve Renilla aktiviteleri ‘Synergy HTX’ luminometre (BioTek) kullanılarak ölçüldü. Lusiferaz aktivitesi Renilla aktivitesi ile normalize edildi.



Şekil 13. pGL4.29 [luc2P/CRE/Hygro] vektör haritası

3.2.2.12.1 Transfeksiyon

HEK-293 hücreleri 75 cm² hücre kültür kaplarına ekildikten sonra hücre kültür kabını yaklaşık %75'lik alanını kaplayacak şekilde büyümesi beklendi. Yaklaşık 24 saatlik süre sonunda hücreler tripsin ile toplandı (Bölüm 3.2.2.2'de detaylı anlatılmıştır). Canlı hücreler trapan mavisi ile sayıldıktan sonra (Bölüm 3.2.2.3'de detaylı anlatılmıştır) 96 kuyulu plaklara 90 µl besiyerinde 10⁴ hücre olacak şekilde ekildi. Hücrelerin yapışması için CO₂ inkübatöründe 37°C'de 24 saat bekletildi. İnkübasyon sonunda FTY720 ve türevlerinin belirlenen EC05 ve EC10 dozları ekilen hücreler uygulandı. Kontrol olarak 1 mM forskolin uygulandı. 24 saat inkübe edildi, inkübasyon sonrasında DNA transfeksiyon karışımı hazırlandı. Bunun için 10 µl EMEM 0,2 µg pGL4.29 plazmit DNA ile 15 dakika inkübe edildi. 0,7 µl Fugene HD reaktifi eklendi. DNA transfeksiyon karışımı bir gün önce ekilen hücelere 10 µl uygulandı, 37°C'de 18 saat inkübe edildi.

3.2.2.12.2 Lusiferaz Aktivitesinin Ölçülmesi

Lusiferaz aktivitesini ölçmek için Promega'nın 'Dual-Glo Lusiferaz' reaktifi kullanıldı. Her bir kuyu için 75 µl besiyeri ve 75 µl 'Dual-Glo Lusiferaz' reaktifi karıştırılarak pGL4.29 plazmiti transfekte edilen hücelere eklendi. Oda sıcaklığında

2 saat inkübe edildi. ‘Synergy HTX’ luminometre (BioTek) kullanılarak ‘Firefly lusiferaz’ aktivitesi ölçüldü. 75 µl besiyeri ve 75 µl ‘Dual-Glo Stop & Glo Lusiferaz’ reaktifi karıştırılarak hücrelere uygulandı. Oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi. ‘Synergy HTX’ luminometre (BioTek) kullanılarak ‘Renilla lusiferaz’ aktivitesi ölçüldü.

3.2.2.13 İstatiksel Analiz

Elde edilen sonuçlar her biri veri için Ortalama \pm Standart Sapma olarak ifade edilmiştir. Farklı gruplar içinde ve arasında kayda değer bir fark olup olmadığını analiz etmek için “Tukey”, “Dunnet” ve “parametrik olmayan Mann-Whitney U” testleri uygulanmıştır.

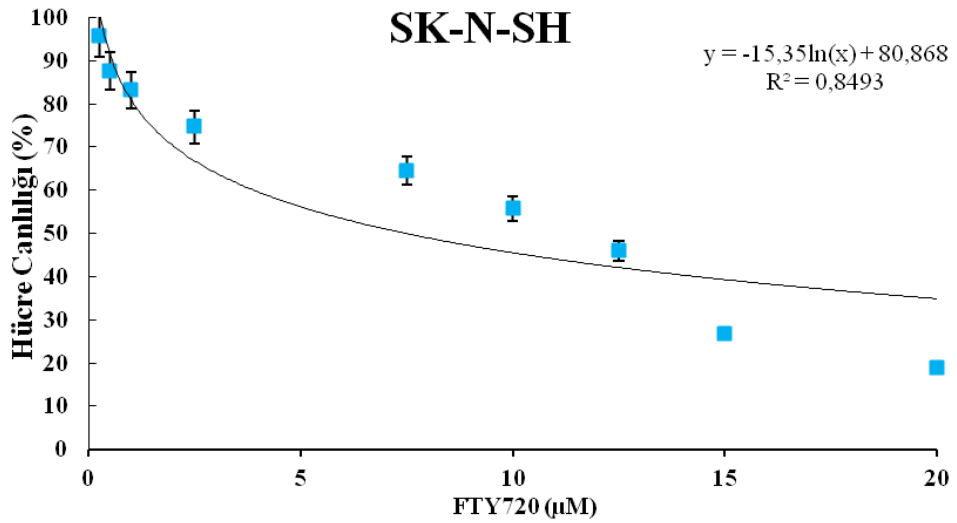
qRT-PCR veri analizleri Qiagen firmasının ücretsiz olarak sağladığı RT² Profiller™ PCR Array Data Analysis v3.4 ile web üzerinden çevrim içi gerçekleştirilmiştir. (*) ile işaretlenen genler $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı olarak farklılık gösteren genlerdir.

4. SONUÇLAR

Çalışmamızda SK-N-SH hücre hattı kullanıldı. Hücreler uygun ortam ve şartlar sağlanarak büyütüldü ve ilk olarak sitotoksosite çalışmaları gerçekleştirildi. Her madde için uygun dozlar belirlendikten sonra hücelere uygulandı ve RNA izolasyonu yapıldıktan sonra, belirlenen genlerin mRNA ekspresyon düzeyleri tayin edildi. Hücre içi cAMP düzeyi ve aktivitesi ölçüldü.

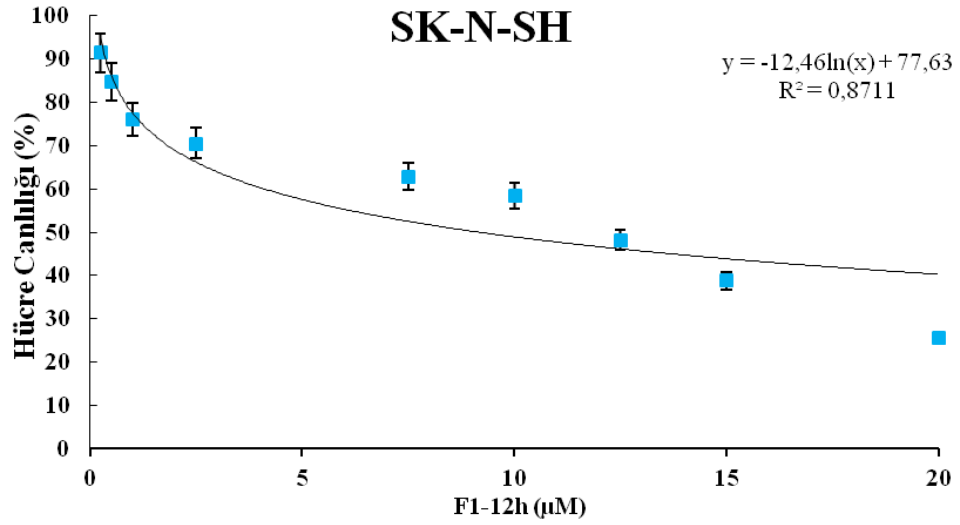
4.1 FTY720 ve Türevi Bileşiklerin SK-N-SH Hücre Canlılığına Etkisi

Sitotoksosite testi için FTY720 ve türevi bileşikler suda çözülerek 0,2 mikronluk filtrelerden geçirildi ve bir gün önce 96 kuyulu plakaya (1×10^3 /kuyucuk) ekilen SK-N-SH hücreleri üzerine farklı konsantrasyonlarda uygulandı. 24 saat inkübasyon sonunda farklı konsantrasyonlarda uygulanan FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücreleri üzerindeki yaşam oranı etkisi belirlendi (Şekil 14-16). $y=ax+b$ denkleminden EC05 ve EC10 değerleri hesaplandı. Sonuçlara göre FTY720 türevleri (F1-12h ve F2-9), FTY720'a göre daha düşük dozda daha çok hücre öldürmektedir yani daha toksiktir. Toksisiteleri sırası ile FTY720 < F1-12h < F2-9'dur.



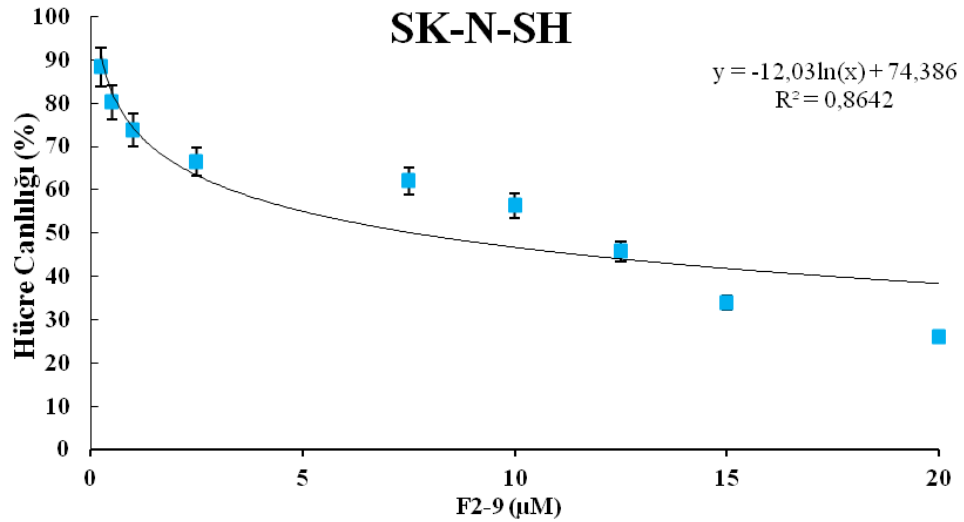
Şekil 14. FTY720'nin SK-N-SH hücre canlılığına etkisi.

Bu sitotoksosite sonuçlarına göre bundan sonraki çalışmalarda 0,40 μM (EC05) ve 0,55 μM (EC10) FTY720 konsatrasyonunun kullanılmasına karar verildi.



Şekil 15. F1-12h'in SK-N-SH hücre canlılığına etkisi

Bu sitotoksosite sonuçlarına göre bundan sonraki çalışmalarda 0,24 μM (EC05) ve 0,37 μM (EC10) F1-12h konsatrasyonunun kullanılmasına karar verildi.



Şekil 16. F2-9'un SK-N-SH hücre canlılığına etkisi.

Bu sitotoksosite sonuçlarına göre bundan sonraki çalışmalarda 0,18 μM (EC05) ve 0,27 μM (EC10) F2-9 konsatrasyonunun kullanılmasına karar verildi.

Hücre kültürü çalışmalarında NOEL ve LOEL dozları belirlemek mümkün değilse de ilerleyen çalışmalar için toksik olmayan dozlar kullanılmaya çalışıldı. Bu

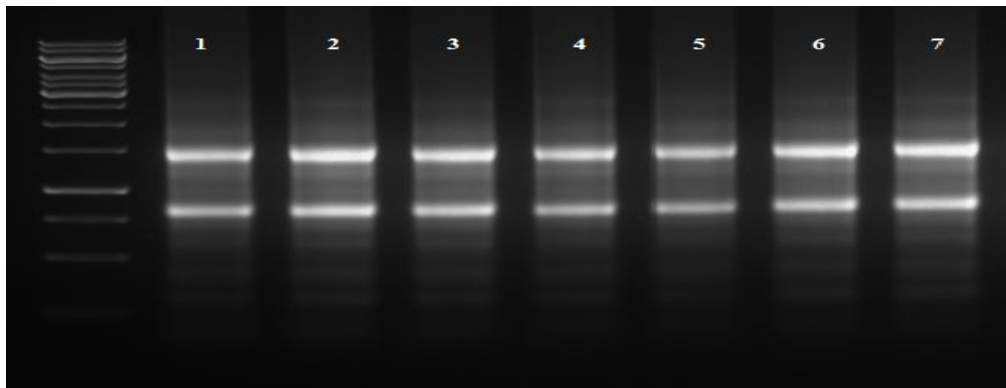
sitotoksisite çalışmalarına göre bundan sonraki çalışmalarda FTY720 ve türevi bileşikler için kullanılmaya karar verilen EC05 ve EC10 dozları Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücre hattında EC05 ve EC10 değerleri

Hücre hattı	Bileşikler	EC05 (μM)	EC10 (μM)
SK-N-SH	FTY720	0,40	0,55
	F1-12h	0,24	0,37
	F2-9	0,18	0,27

4.2 RNA İzolasyonu Sonuçları

SK-N-SH hücrelerinden FTY720, F1-12h ve F2-9 bileşiklerinde EC05 ve EC10 değerleri sitotoksisite deneyi ile belirlendikten sonra bu dozların uygun hücre hatlarında belirlenen MS ve GPCR genlerinin ekspresyon düzeylerindeki etkisini test etmek için bileşikler hücre kültürü ortamında steril şartlarda hücrelere uygulandı. Bunun için 10 mm petrilere 10^6 hücre ekildi ve bir gün inkübasyonun ardından belirlenen EC05 ve EC10 dozları bu hücrelere uygulandı. 24 saatin sonunda hücreler deney prosedürüne uygun olacak şekilde toplandı ve RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen RNA görüntüleri Şekil 17’de verilmiştir.



Şekil 17. SK-N-SH hücrelerinden izole edilen RNA’ların %1’lik agaroz jel elektroforez görüntüsü. Elde edilen RNA’lar (3 μl) %1 agaroz jel elektroforezine tabi tutularak görüntülendi. Hat 0: GeneRulerTM 100 bp DNA izleyici; Hat 1: Kontrol SK-N-SH, Hat 2: FTY720 EC05 dozu, Hat 3: FTY720 EC10 dozu, Hat 4: F1-12h EC05 dozu, Hat 5: F1-12h EC10 dozu, Hat 6: F2-9 EC05 dozu, Hat 7: F2-9 EC10 dozu

4.3 RT-PCR Analiz Sonuçları

4.3.1 MS Dizin Analizleri

MS patogeneğinde rol oynadığı düşünölen 84 adet genin ifade düzeyini analiz etmek ve taramak için primer dizileri sentezlettilirdi ve kullanıldı. Bu diziler literatür, GeneBank/EMBL ve ‘Harward Primer Bank’ kullanılarak belirlendi. Seçilen primerler Sentromer (Alfagen) firmasına sentezlettilirdi. Her bir gen için mRNA ekspresyon düzeyleri kontrol, FTY720, F1-12h ve F2-9 ile uygulanan örnekler SK-N-SH hücrelerinde saptandı. MS dizin analizi 10 farklı yolağa ayrıldı, sonuçlar verilirken gen sayısı fazla olanlar birden fazla bölünerek verildi. EC05 ve EC10 olarak iki farklı doz kullanıldı. FTY720, F1-12h ve F2-9’un SK-N-SH hücrelerine uygulaması sonucu seçilen genlerin mRNA ekspresyon düzeylerine etkilerinin kat değişim sonuçları Ekler Tablo A.5’de verilmiştir.

MS dizi ile analiz edilen genler: (Detay isimleri, Ekler Tablo A.1’de verilmiştir).

Miyelinizasyon: EDN1, EDNRA, HEXB, MAL, MBP, NTF3, PLP1, PMP22.

T Hücre Aktivasyon & Sinyalleri: C1S, CD28, FOXP3, IFNG, IL10, IL18, IL1B, IL2RA (CD25), IL1R1, IL1R2, IL2, TGFB1.

Sitokinler & Kemokinler: CSF1, LTA, TGFB2.

İnflamasyonun Düzenlenmesi: CCL5 (RANTES), IL6, IL6ST, JAK2, TNFRSF1A.

İnflamatuar Cevap: CCL2 (MCP-1), CCL3 (MIP-1A), CCL7 (MCP-3), CCR1, CCR5, CD40 (TNFRSF5), CXCL10 (INP10), CXCL11 (I-TAC, IP-9), CXCL9 (MIG), IL13, STAT3, TNF, TNFRSF1B, PTGDR.

Nöronal Apoptozis: AKT1S1 (PRAS40), BAX, BCL2, BCL2L1 (BCLXL), JUN, AKT, JUNB.

Diğer Apoptozis Genleri: MAPK1 (ERK2), HDAC1, RAF1, FASLG (TNFSF6), ADM, VEGFA, CFLAR (Casper), FGF2 (BFGF), MYC, MAX, NR2F1.

Hücre Adezyon Molekülleri: APC, APP, CD4,CD44, CD9, CXCR3, ERBB3, EZR, FN1, ICAM1, ITGB2, MAP2K1 (MEK1), VCAM1, MMP9, EPHA1, COL1A1, MAG, HLA-DRB1.

Hüresel Stres: GPX1, HIF1A, PTPN11, SOD1.

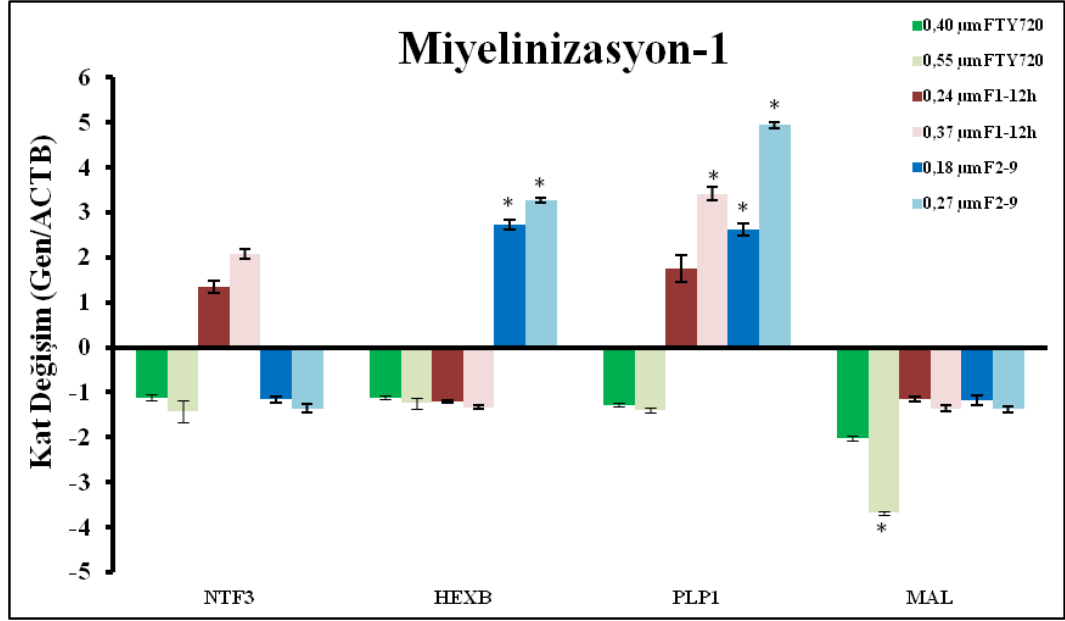
Diğer Multipl Skleroz Genleri: ASPA, EDC4, GFAP, GNAI2, GRB2, JAK1, PHGDH, RANGAP1, TOP1, TUBB4A, YWHAH.

MS dizi analiz çalışmaları her gruptan üç tekrar olacak şekilde duplike olarak çalışıldı. Çalışmalar sonucu her grubun ortalamaları alındı ve analiz yapıldı. Verilerin analizleri Qiagen firmasının ücretsiz olarak sağladığı RT² Profiller™ PCR Array Data Analysis v3.4 ile web üzerinden çevrim içi gerçekleştirildi. Gen ekspresyon düzeyleri 'house keeping' gen olarak ACTB ile normalize edildi. (*) ile işaretlenen genler p<0.05 düzeyinde anlamlı olarak farklılık gösteren genlerdir.

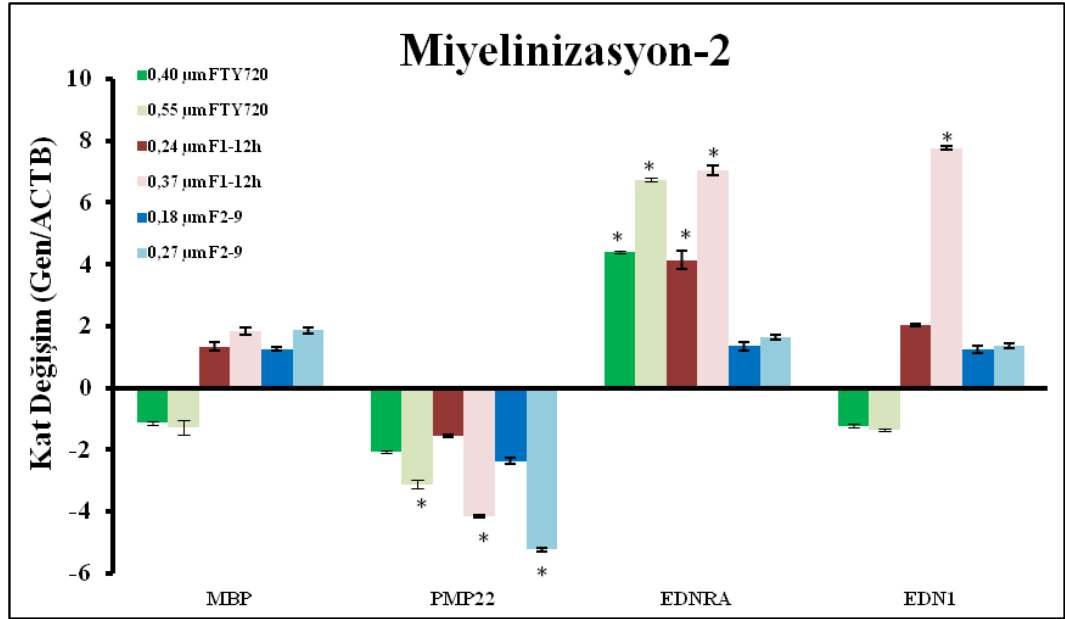
4.3.1.1 SK-N-SH Hücrelerinde MS dizin analizleri

MS dizin analizlerinde kullanılan genler birden fazla yolakta görev aldığı için grafikler çizilirken genler en anlamlı olan yollarda alınmıştır. SK-N-SH hücrelerinde MS dizi analiz sonuçları Şekil 18-38 arasında sunulmaktadır.

Miyelinizasyon: Miyelinizasyona katkı sağlayan 8 adet genden (EDN1, EDNRA, HEXB, MAL, MBP, NTF3, PLP1, PMP22) SK-N-SH hücrelerinde FTY720'nin EC05 ve EC10 dozunda EDNRA anlamlı bir şekilde artarken, ayrıca EC10 dozunda MAL ve PMP22 anlamlı bir şekilde baskılanmaktadır. F1-12h'nin EC05 dozunda EDNRA anlamlı bir şekilde artarken, EC10 dozunda EDN1, EDNRA ve PLP1 anlamlı olarak artmakta, PMP22 anlamlı olarak baskılanmaktadır. F2-9'un EC05 ve EC10 dozunda PLP1 ve HEXB anlamlı olarak artarken, ayrıca EC10 dozunda PMP22 anlamlı olarak baskılanmaktadır. SK-N-SH hücrelerinde miyelinizasyona katkı sağlayan dizin analiz sonuçları Şekil 18 ve 19'da sunulmaktadır.



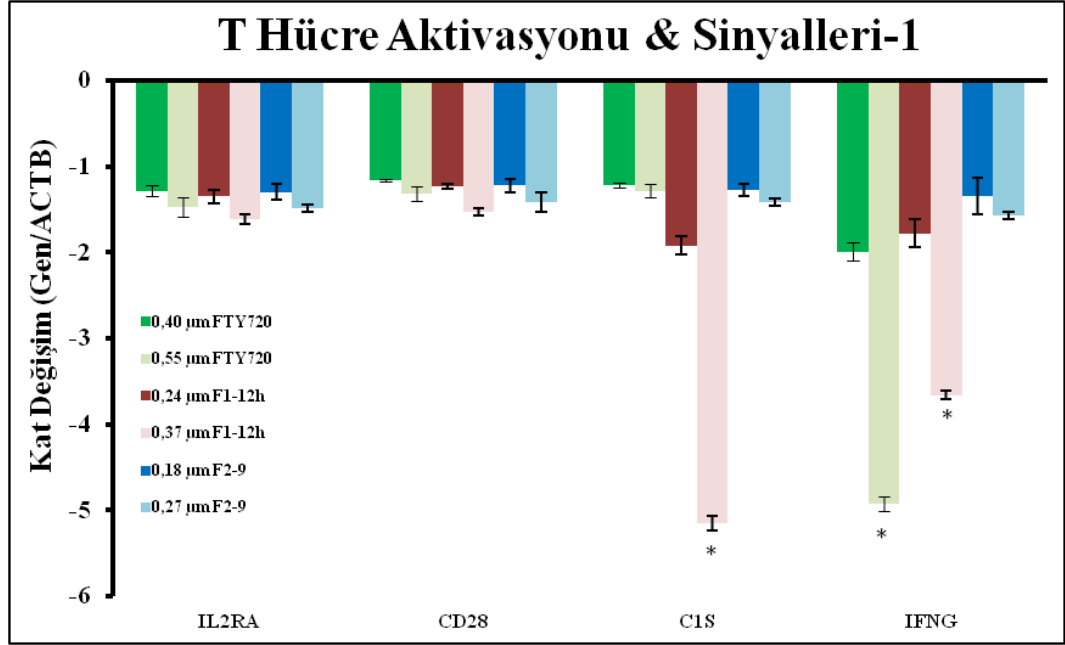
Şekil 18. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde miyelinizasyon genlerine etkisi 1



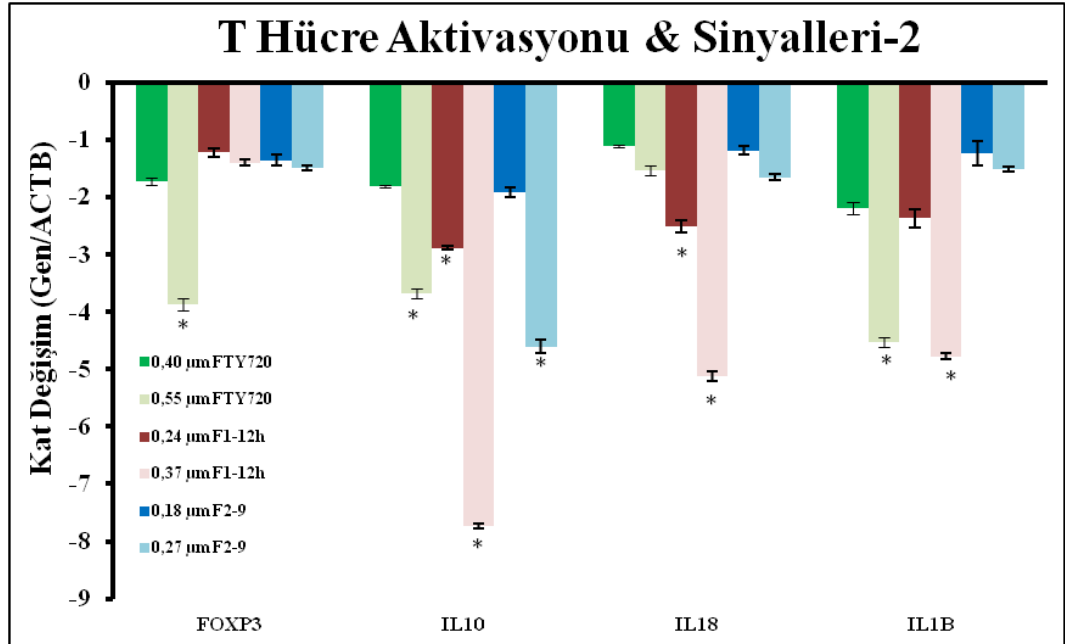
Şekil 19. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde miyelinizasyon genlerine etkisi 2

T Hücre Aktivasyonu ve Sinyalleri: T hücre aktivasyonu ve sinyallerine katkı sağlayan 12 (C1S, CD28, FOXP3, IFNG, IL10, IL18, IL1B, IL2RA, IL1R1, IL1R2, IL2, TGFB1) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720 ve F2-9'un EC05 dozunda anlamlı bir değişiklik yokken, F1-12h'm EC05 dozunda IL2, IL10 ve IL18 anlamlı olarak baskılanmaktadır. FTY720'nin EC10 dozunda IFNG, FOXP3, IL10, IL1B, IL1R1 anlamlı olarak baskılanırken, F1-12h'm EC10 dozunda C1S, IFNG,

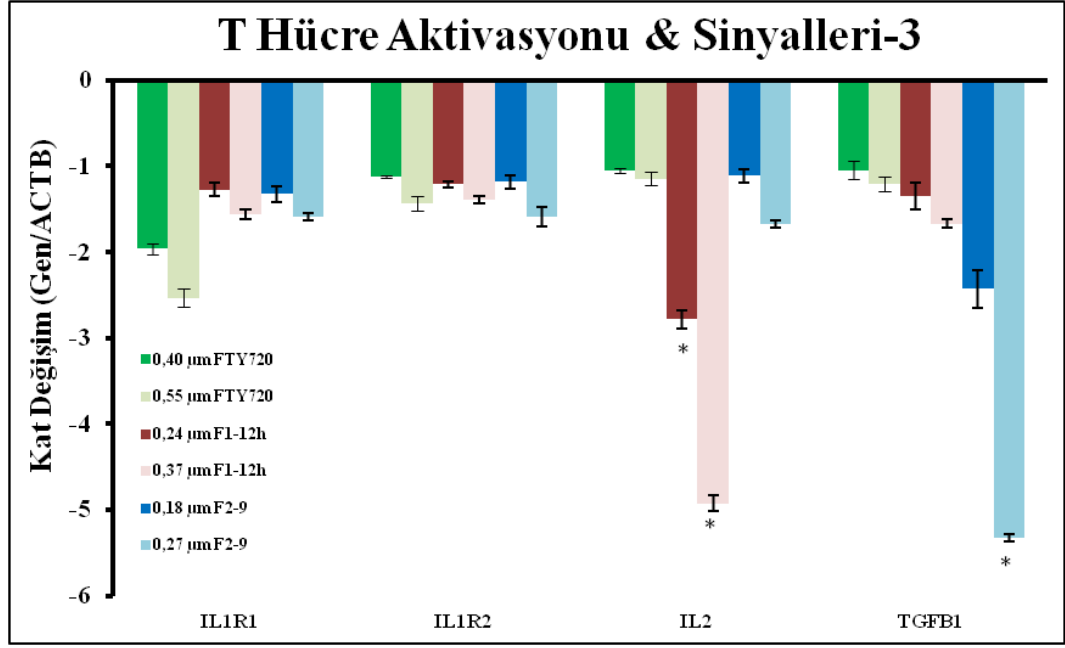
IL10, IL18, IL1B ve IL2 anlamlı olarak baskılanmaktadır. F2-9'un EC10 dozunda IL10 ve TGFB1 anlamlı olarak baskılanmaktadır. SK-N-SH hücrelerinde T hücre aktivasyonu ve sinyallere katkı sağlayan dizin analiz sonuçları Şekil 20-22 arasında sunulmaktadır.



Şekil 20. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde T hücre aktivasyon ve sinyal genlerine etkisi 1

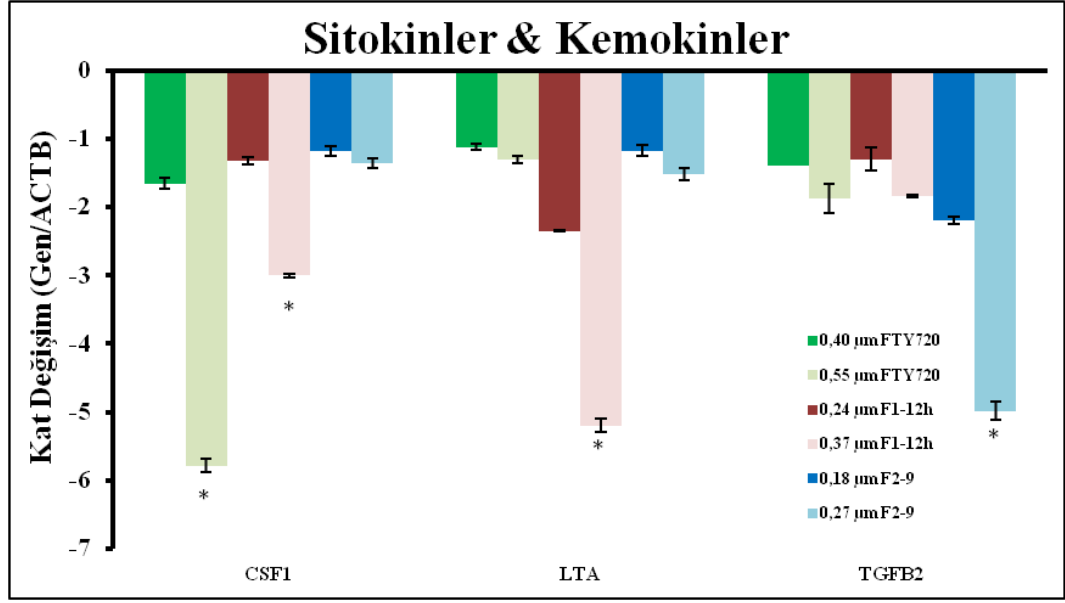


Şekil 21. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde T hücre aktivasyon ve sinyal genlerine etkisi 2



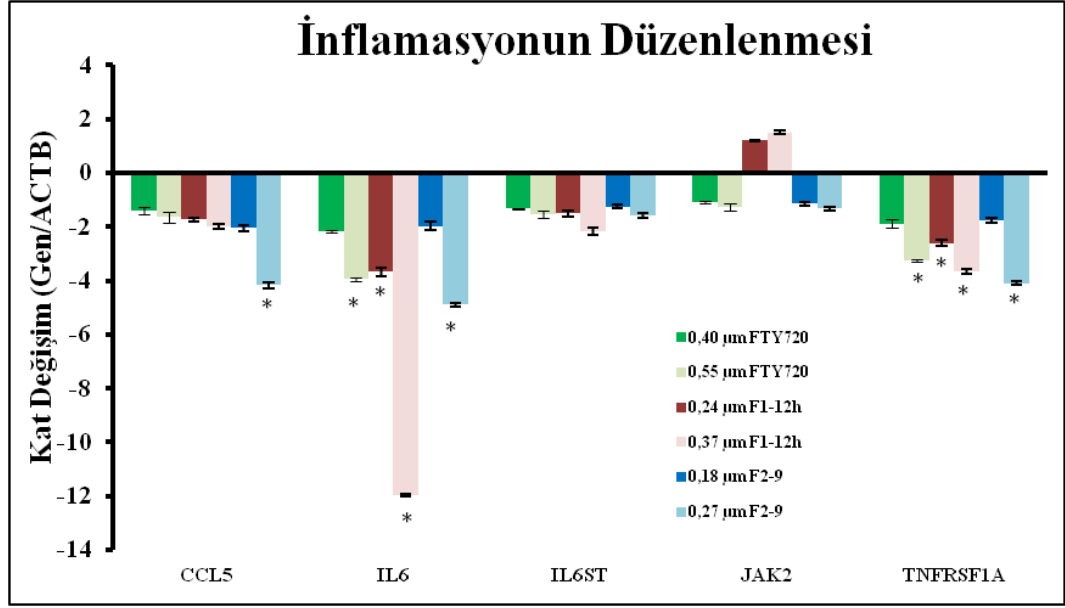
Şekil 22. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde T hücre aktivasyon ve sinyal genlerine etkisi 3

Sitokin ve Kemokinler: Sitokin ve kemokin olan 3 (CSF1, LTA, TGFB2) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720, F1-12h ve F2-9'un EC05 dozunda anlamlı bir değişiklik yoktur. FTY720'nin EC10 dozunda CSF1, F1-12h'm EC10 dozunda CSF1 ve LTA, F2-9'un EC10 dozunda TGFB2 anlamlı olarak baskılanmaktadır. Her üç bileşikte sitokin ve kemokinleri baskılamaya katkı sağlamaktadır. SK-N-SH hücrelerinde sitokinler ve kemokinlere katkı sağlayan dizin analiz sonuçları Şekil 23'de sunulmaktadır.



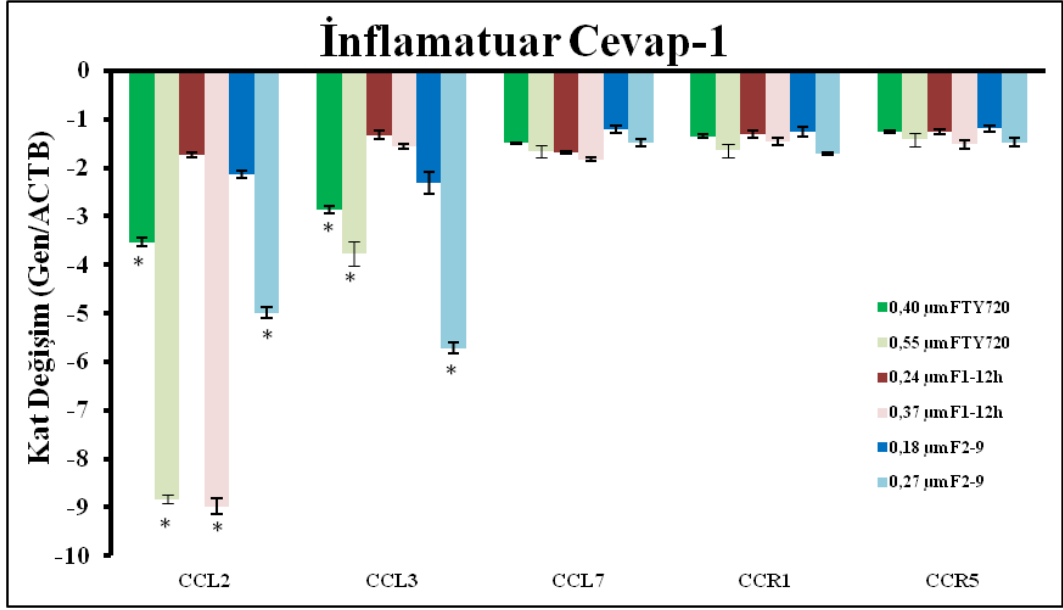
Şekil 23. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde sitokin ve kemokin genlerine etkisi

İnflamasyonun Düzenlenmesi: İnflamasyonun düzenlenmesine katkı sağlayan 5 (CCL5, IL6, IL6ST, JAK2, TNFRSF1A) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720 ve F2-9'un EC05 dozunda anlamlı bir değişiklik yokken, FTY720'nin EC10 dozunda ve F1-12h'm EC05 ve EC10 dozunda IL6 ve TNFRSF1A anlamlı olarak baskılanmaktadır. F2-9'un EC10 dozunda CCL5, IL6 ve TNFRSF1A anlamlı olarak baskılanmaktadır. SK-N-SH hücrelerinde inflamasyonun düzenlenmesine katkı sağlayan dizin analiz sonuçlar Şekil 24'de sunulmaktadır.

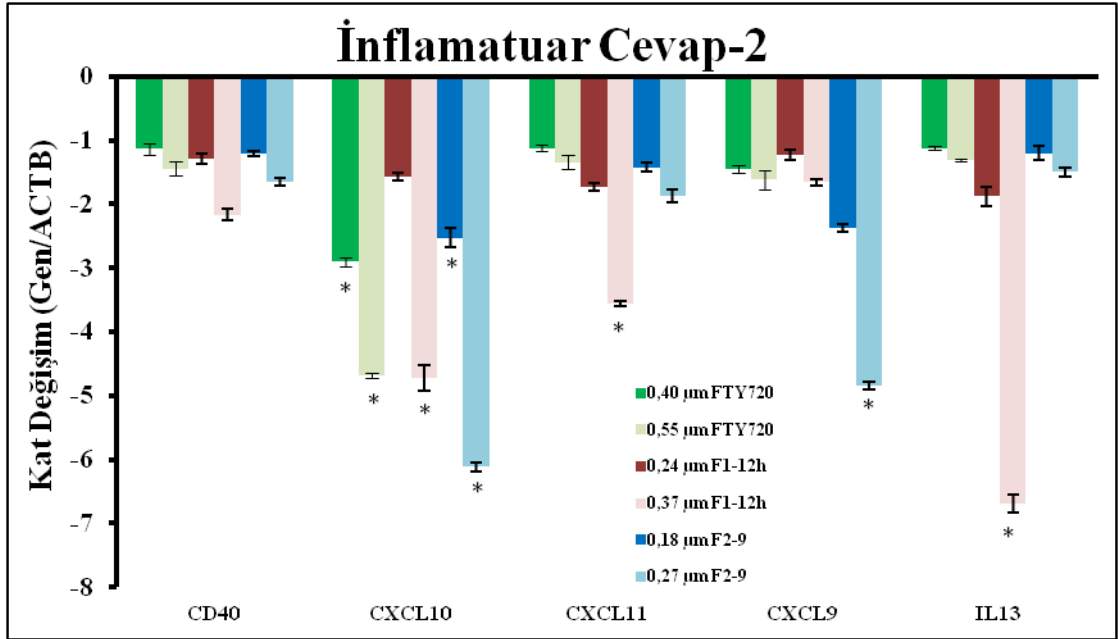


Şekil 24. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde inflamasyonun düzenlenmesi genlerine etkisi

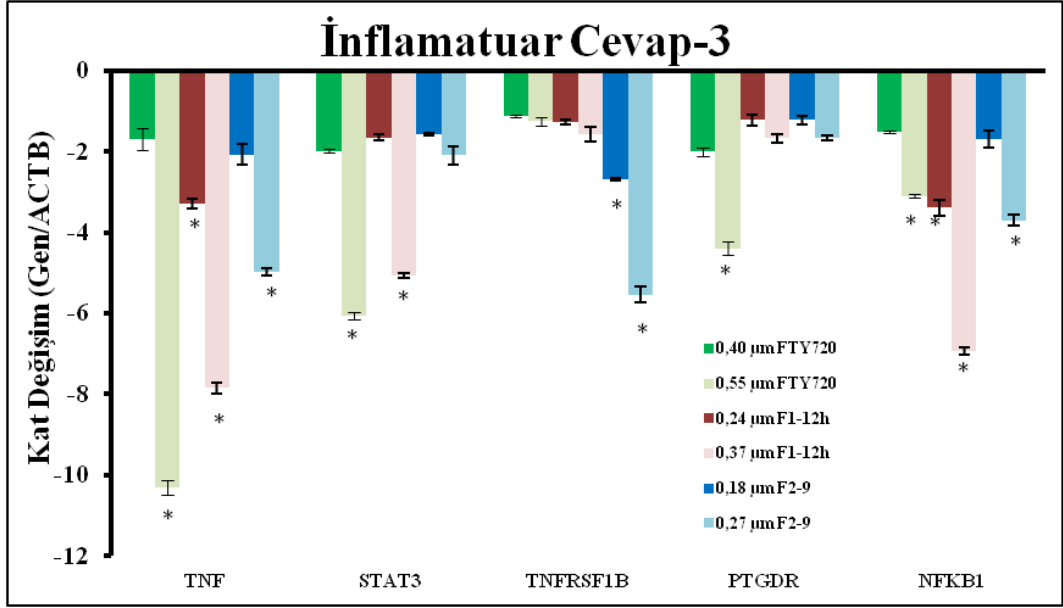
İnflamatuvar Cevap: İnflamatuvar cevaba katkı sağlayan 14 (CCL2, CCL3, CCL7, CCR1, CCR5, CD40, CXCL10, CXCL11, CXCL9, IL13, STAT3, TNF, TNFRSF1B, PTGDR) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720'nin EC05 dozunda CCL2, CCL3 ve CXCL10 anlamlı olarak baskılanırken, EC10 dozunda PTGDR, NFKB, STAT3 ve TNF anlamlı olarak baskılanmaktadır. F1-12h için EC05 dozunda NFKB1 ve TNF anlamlı olarak azalırken, EC10 dozunda CCL2, CXCL10, CXCL11, IL13, NFKB1, STAT3 ve TNF anlamlı olarak azalmaktadır. F2-9'un EC05 dozunda TNFRSF1B ve CXCL10 anlamlı olarak baskılanırken, EC10 dozunda CCL2, CCL3, CXCL9, CXCL10, NFKB, TNFRSF1B ve TNF anlamlı olarak baskılanmaktadır. SK-N-SH hücrelerinde inflamatuvar cevaba katkı sağlayan dizin analiz sonuçlar Şekil 25-27 arasında sunulmaktadır.



Şekil 25. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde inflamatuvar cevap genlerine etkisi 1

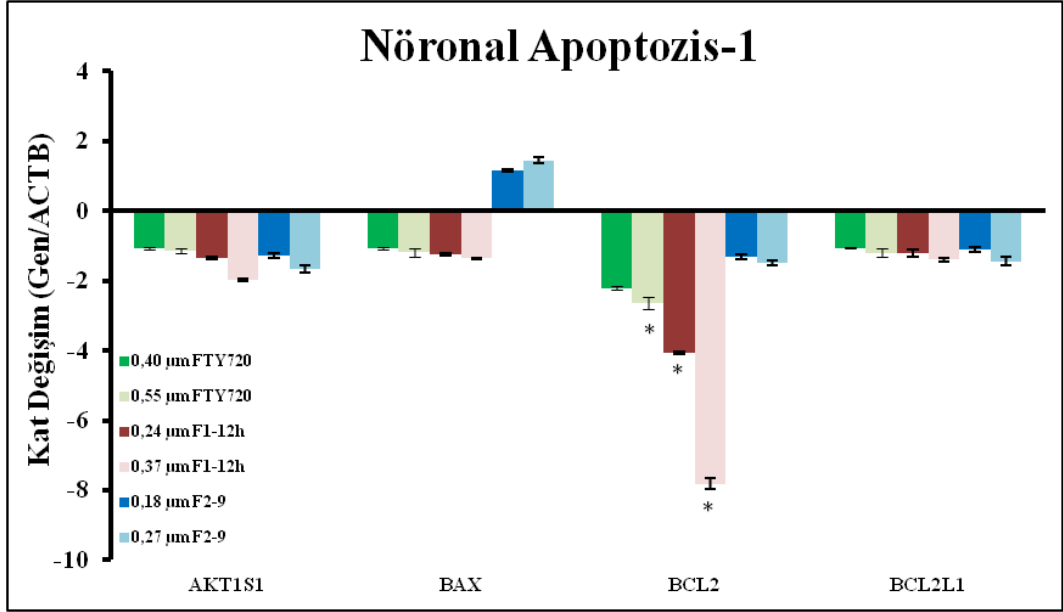


Şekil 26. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde inflamatuvar cevap genlerine etkisi 2

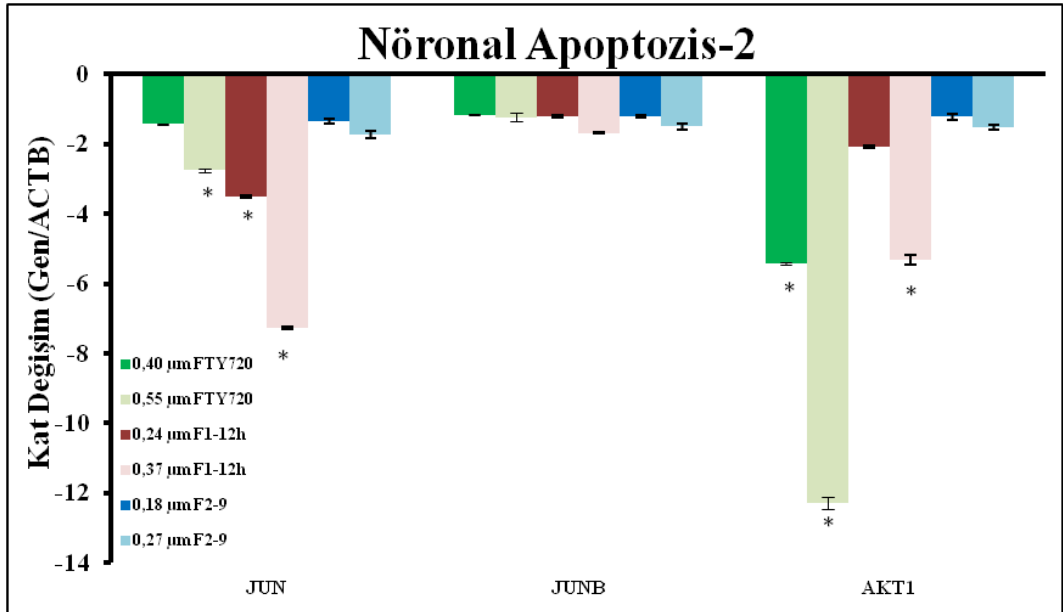


Şekil 27. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde inflamatuvar cevap genlerine etkisi 3

Nöronal Apoptozis: Apoptozise katkı sağlayan 7 (AKT1S1, BAX, BCL2, BCL2L1, JUN, AKT, JUNB) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720'nin EC05 dozunda AKT1 anlamlı olarak baskılanırken, F1-12h'm EC05 dozunda BCL2 ve JUN anlamlı olarak baskılanmaktadır. FTY720 ve F1-12h'm EC10 dozunda BCL2, JUN ve AKT1 anlamlı olarak baskılanmaktadır. F2-9'un EC05 ve EC10 dozunda anlamlı bir değişiklik yoktur. SK-N-SH hücrelerinde nöronal apoptozise katkı sağlayan dizin analiz sonuçlar Şekil 28 ve 29'da sunulmaktadır.



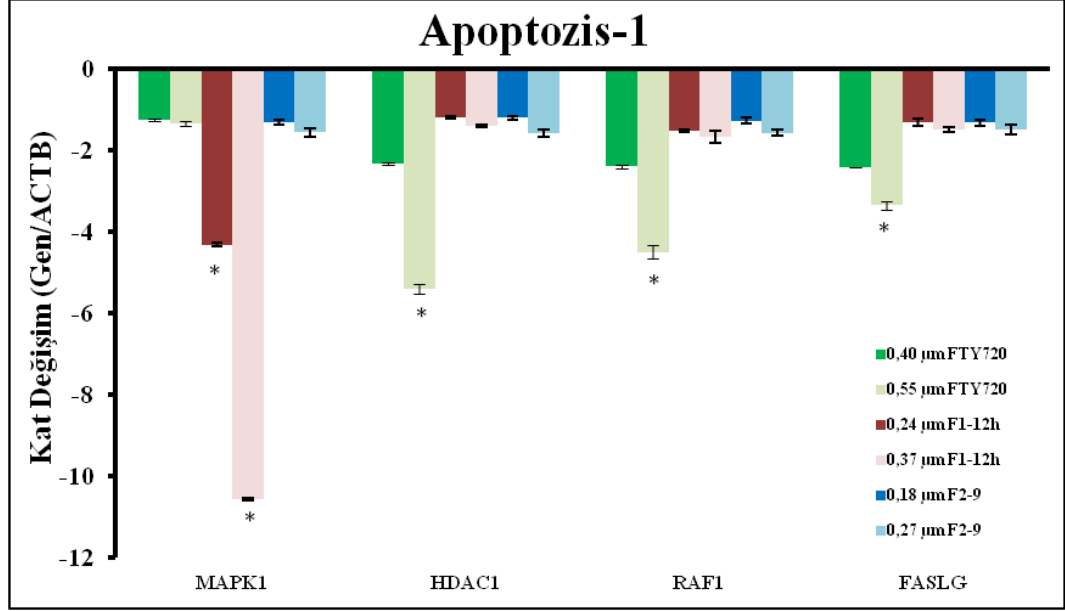
Şekil 28. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde nöronal apoptozis genlerine etkisi 1



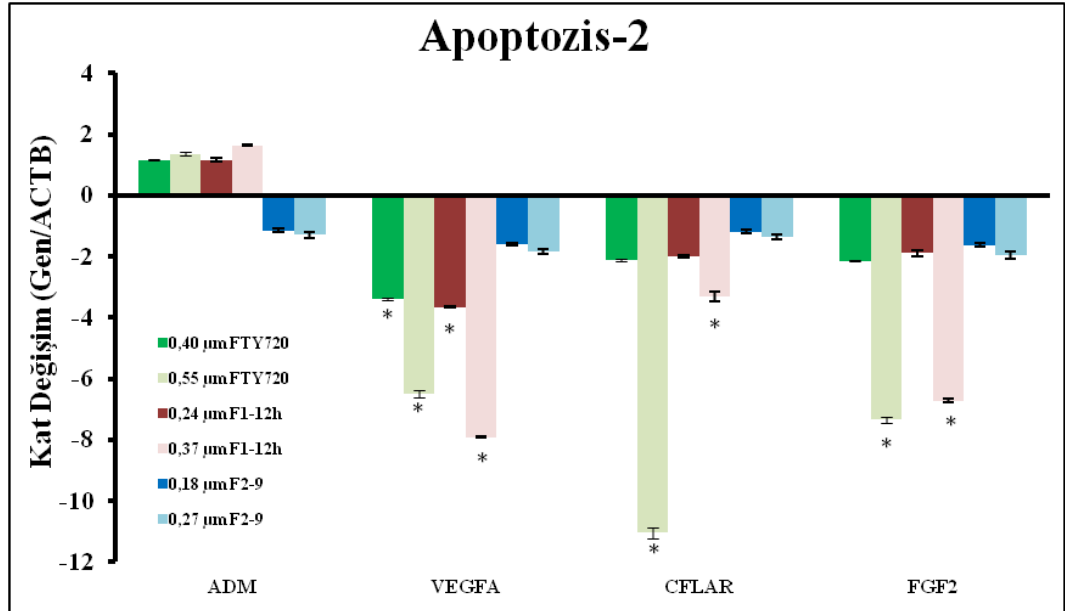
Şekil 29. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde nöronal apoptozis genlerine etkisi 2

Apoptozis: Apoptozise katkı sağlayan 11 (MAPK1, HDAC1, RAF1, FASLG, ADM, VEGFA, CFLAR, FGF2, MYC, MAX, NR2F1) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720'nin EC05 dozunda VEGFA ve MYC anlamlı olarak baskılanırken, EC10 dozunda MYC, VEGFA, CFLAR, FGF2, FASLG, RAF1 ve HDAC1 anlamlı olarak baskılanmaktadır. F1-12h için EC05 dozunda MAPK1, VEGFA ve MYC anlamlı olarak baskılanırken, EC10 dozunda MAPK1, VEGFA,

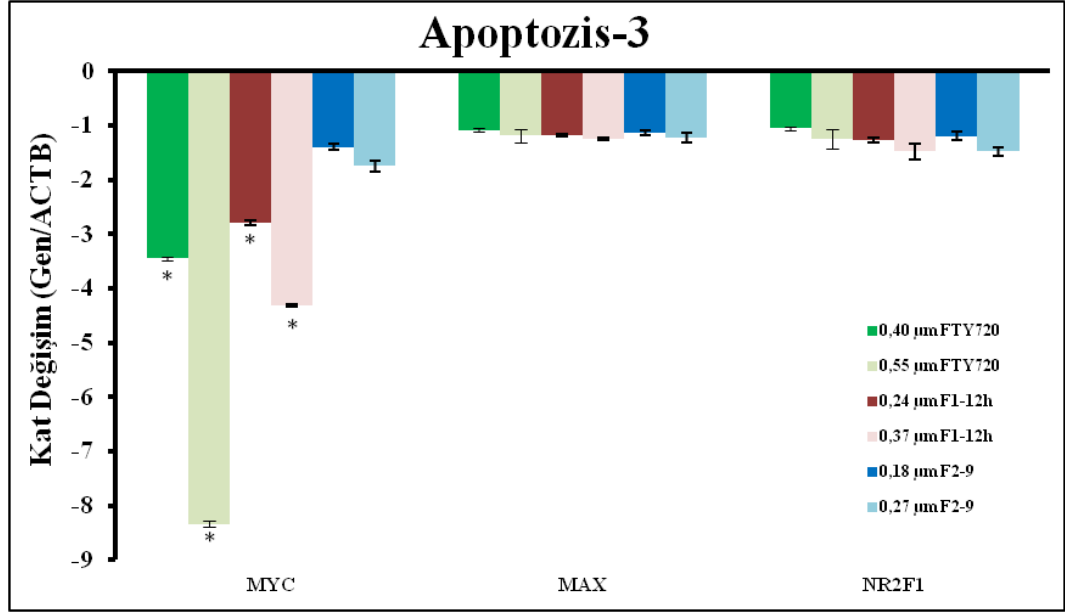
MYC, CFLAR ve FGF2 anlamlı olarak baskılanmaktadır. F2-9'un EC05 ve EC10 dozunda anlamlı bir değişiklik yoktur. SK-N-SH hücrelerinde apoptozise katkı sağlayan dizin analiz sonuçlar Şekil 30-32 sunulmaktadır.



Şekil 30. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde apoptozis genlerine etkisi 1

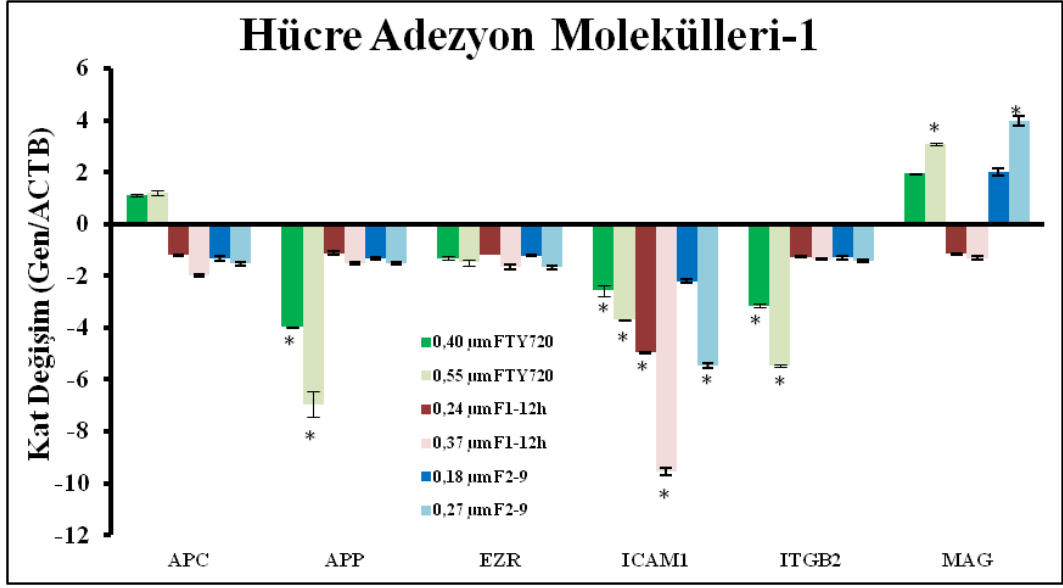


Şekil 31. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde apoptozis genlerine etkisi 2

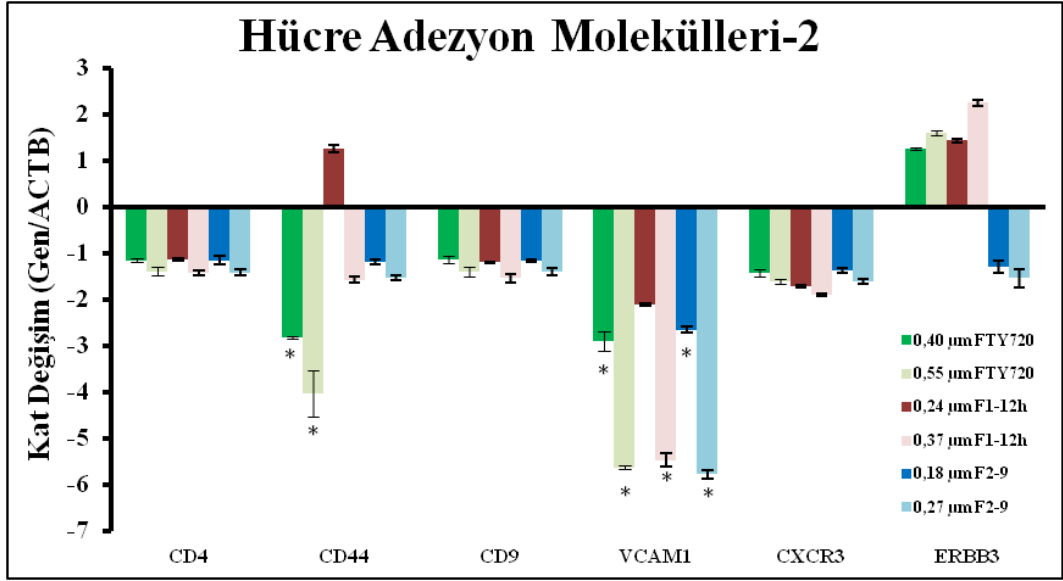


Şekil 32. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde apoptozis genlerine etkisi 3

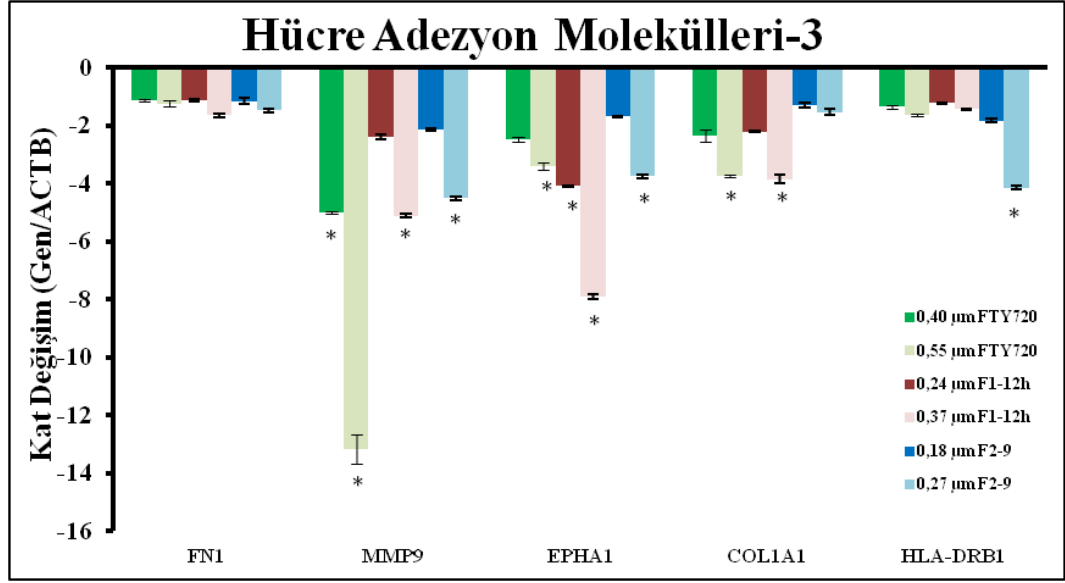
Hücre Adezyonu: Hücre adezyonuna katkı sağlayan 18 (APC, APP, CD4, CD44, CD9, CXCR3, ERBB3, EZR, FN1, ICAM1, ITGB2, MAP2K1, VCAM1, MMP9, EPHA1, COL1A1, MAG, HLA-DRB1) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720'nin EC05 ve EC10 dozunda APP, CD44, ICAM1, ITGB2, MMP9 ve VCAM1 anlamlı olarak baskılanırken, ayrıca EC10 dozunda EPHA1, COL1A1 anlamlı olarak azalmakta, MAG anlamlı olarak artmaktadır. F1-12h için EC05 dozunda ICAM1 ve EPHA1 anlamlı olarak baskılanırken, EC10 dozunda EPHA1, MMP9, COL1A1, ICAM1 ve VCAM1 anlamlı olarak baskılanmaktadır. F2-9'un EC05 dozunda VCAM1 anlamlı olarak baskılanırken, EC10 dozunda MMP9, EPHA1, HLA-DRB1, ICAM1 ve VCAM1 anlamlı olarak baskılanmakta, MAG anlamı olarak artmaktadır. Her üç bileşik de hücre adezyonuna katkı sağlamaktadır. SK-N-SH hücrelerinde hücre adezyonuna katkı sağlayan dizin analiz sonuçları Şekil 33-35 arasında sunulmaktadır.



Şekil 33. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde hücre adezyon genlerine etkisi 1

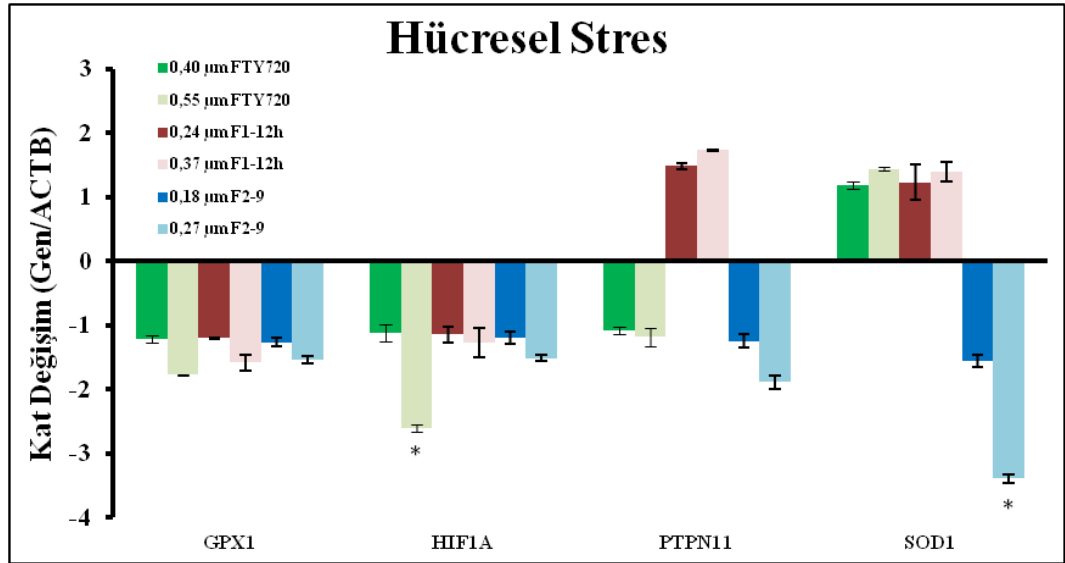


Şekil 34. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde hücre adezyon genlerine etkisi 2



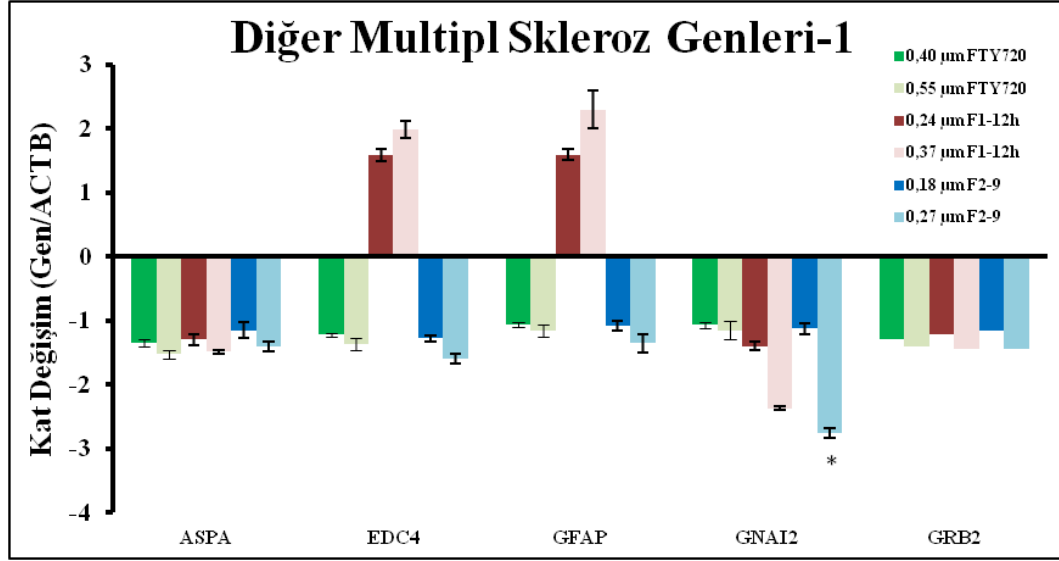
Şekil 35. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde hücre adezyon genlerine etkisi 3

Hücresel Stres: Hücresel strese katkı sağlayan 4 (GPX1, HIF1A, PTPN11, SOD1) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720'nin EC05 dozunda anlamlı bir değişiklik yokken, EC10 dozunda HIF1A anlamlı olarak baskılanmaktadır. F1-12h için EC05 ve EC10 dozunda anlamlı bir değişiklik yoktur. F2-9'un EC05 dozunda anlamlı bir değişiklik yokken, EC10 dozunda SOD1 anlamlı olarak baskılanmaktadır. SK-N-SH hücrelerinde hücresel strese katkı sağlayan dizin analiz sonuçlar Şekil 36'da sunulmaktadır.

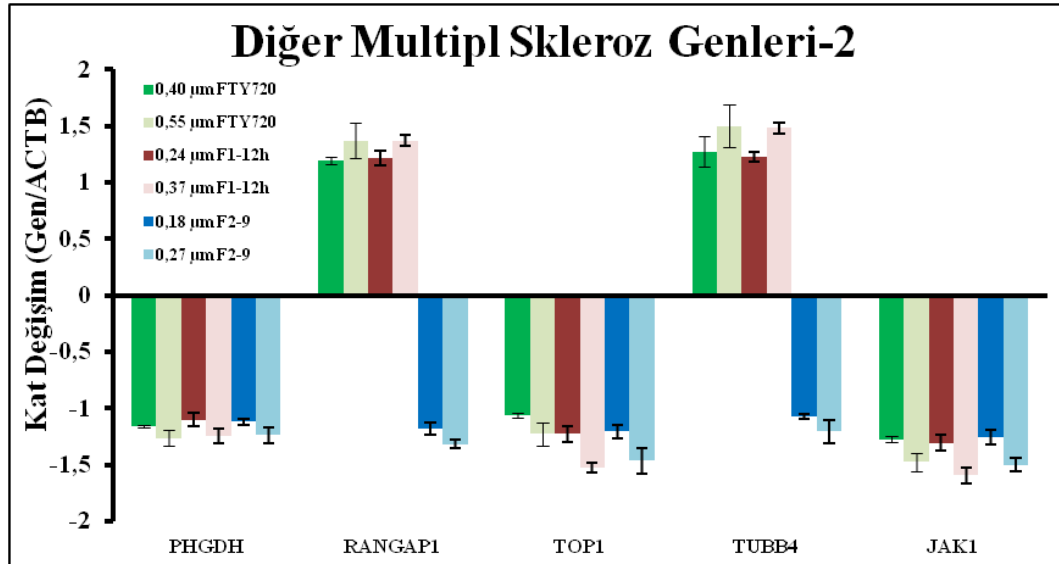


Şekil 36. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde hücresel stres genlerine etkisi

Diğer MS genleri: Diğer MS genlerine katkı sağlayan 11 (ASPA, EDC4, GFAP, GNAI2, GRB2, PHGDH, RANGAP1, TOP1, TUBB4A, JAK1, YWHAH) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720 ve F1-12h'nin, EC05 ve EC10 dozlarında anlamlı bir değişiklik yoktur. F2-9'un EC05 dozunda anlamlı bir değişiklik yokken, EC10 dozunda GNAI2 baskılanmaktadır. SK-N-SH hücrelerinde diğer MS genlerine katkı sağlayan dizin analiz sonuçları Şekil 37-38 arasında sunulmaktadır.



Şekil 37. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde diğer multipl skleroz genlerine etkisi 1



Şekil 38. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde diğer multipl skleroz genlerine etkisi 2

4.3.2 GPCR Dizin Analizleri

84 adet GPCR genlerinin düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülen genlerin ifade düzeyini analiz etmek ve taramak için primer dizileri sentezletilmiş ve kullanılmıştır. Bu dizinler literatürde yer alan genler ve Qiagen firmasının çeşitli dizinlerinde yer alan genlerden yola çıkıldı. Bu dizinlerin pahalı olması nedeniyle Qiagen firmasından alınmadı, seçilen genler Sentromer (Alfagen) firmasına sentezletirildi. GPCR dizin analizi 10 farklı yolağa ayrıldı, sonuçlar verilirken gen sayısı fazla olanlar birden fazla bölünerek verildi. EC05 ve EC10 olarak iki farklı doz kullanıldı. FTY720, F1-12h ve F2-9'un SK-N-SH hücrelerine uygulaması sonucu seçilen genlerin mRNA ekspresyon düzeylerine etkilerinin kat değişim sonuçları Ekler Tablo A.5'de verilmiştir.

GPCR dizi ile analiz edilen genler: (Detay isimleri, Ekler Tablo A.2'de verilmiştir).

G-Protein Bağlı Reseptörler (GPCR)

Biyoaktif Lipit Reseptörleri: S1PR1, LPAR1, S1PR3, LPAR2, S1PR2.

Metabotropik Glutamat & GABA Benzeri Reseptörler: CASR, GRM1, GRM2, GRM4, GRM5, GRM7.

Sekretin Benzeri Reseptörler: BAI1, SCTR.

G-Protein Bağlı Reseptör Sinyal Yolağı

Dopamin Reseptör Sinyalleri: DRD1, DRD2, OPRD1.

G-Protein & cAMP / Protein Kinaz A Sinyalleri: ADCY5, ADORA2A, ADRB1, ADRB2, CALCR, CALCRL, CRHR1, CRHR2, CYP19A1, GALR2, GCGR, GNAQ, GNAS, LHCGR, OPRK1, PTGS2 (COX2), PTH1R, RGS2, TSHR, UCP1, RHO.

Kalsiyum Sinyalleri (PKC, NFAT, vd.): CCL4 (MIP-1B), ELK1, ELK4, EGR1.

PKC Sinyalleri (Kalsiyum, MEK, vd.): AGTR2, DUSP14, FOS, NOS2 (INOS), PRKCA, SERPINE1 (PAI-1), SOCS1, AGTRAP, AGTR1, AGT.

Tirozin Kinaz Sinyalleri: CTGF, PDPK1, YWHAZ.

PI3 Kinaz Sinyalleri: CCND1, CDKN1B (P27KIP1), PIK3CG, CDKN1A (p21CIP1, WAF1).

Diğer G-Protein Bağlı Reseptör Sinyal Yolakları: ARRB1, ARRB2, CCNE1, CCNE2.

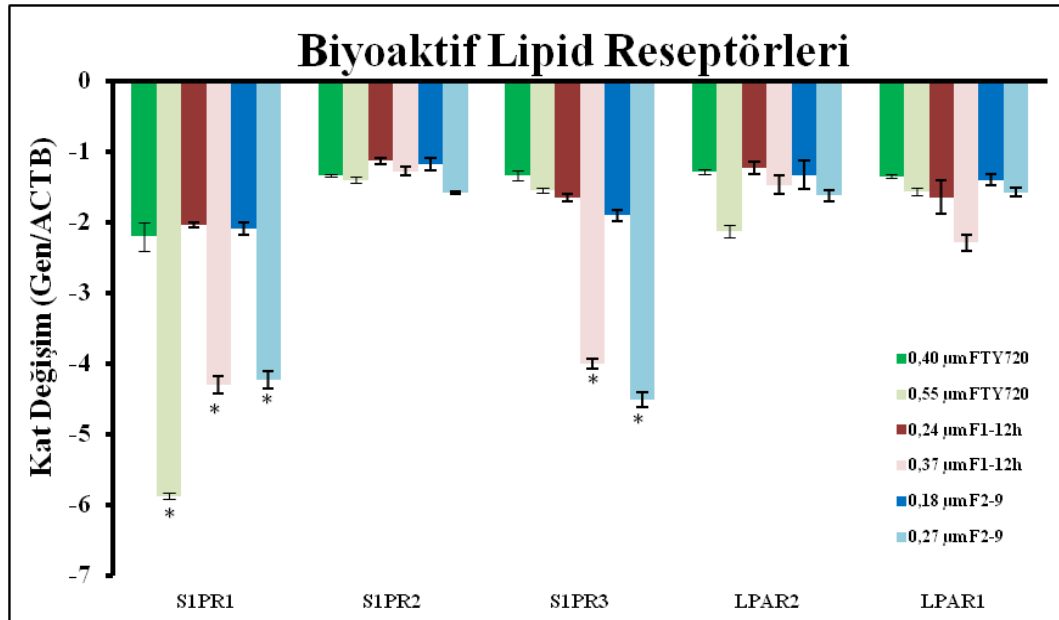
GPCR dizi analiz çalışmaları her gruptan üç tekrar olacak şekilde duplike olarak çalışıldı. Çalışmalar sonucu her grubun ortalamaları alındı ve analiz yapıldı. Verilerin analizleri Qiagen firmasının ücretsiz olarak sağladığı 'RT² ProfillerTM PCR

Array Data Analysis v3.4' ile web üzerinden çevrim içi gerçekleştirildi. Gen ekspresyon düzeyleri 'house keeping' gen olarak ACTB ile normalize edildi. (*) ile işaretlenen genler $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı olarak farklılık gösteren genlerdir.

4.3.2.1 SK-N-SH Hücrelerinde GPCR Dizin Analizleri

GPCR dizin analizlerinde kullanılan genler birden fazla yolakta görev aldığı için grafikler çizilirken genler en anlamlı olan yollarda alınmıştır. SK-N-SH hücrelerinde GPCR dizi analiz sonuçları Şekil 39-52 arasında sunulmaktadır.

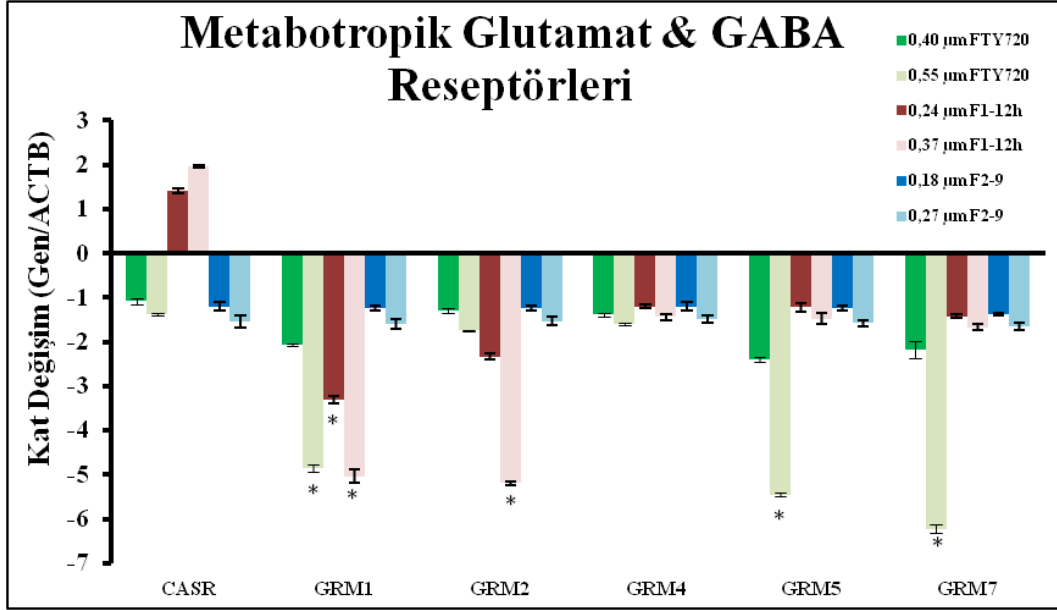
Bioaktif Lipit Reseptörleri: Bioaktif lipit reseptörlerine katkı sağlayan 5 (S1PR1, LPAR1, S1PR3, LPAR2, S1PR2) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720, F1-12h ve F2-9'un EC05 dozunda anlamlı bir değişiklik yokken, FTY720'nin EC10 dozunda sadece S1PR1 geni anlamlı olarak baskılanmaktadır. F1-12h ve F2-9'un EC10 dozunda S1PR1 ve S1PR3 anlamlı olarak baskılanmaktadır. SK-N-SH hücrelerinde bioaktif lipit reseptör genlerine katkı sağlayan dizin analiz sonucu Şekil 39'de sunulmaktadır.



Şekil 39. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde bioaktif lipit reseptör genlerine etkisi

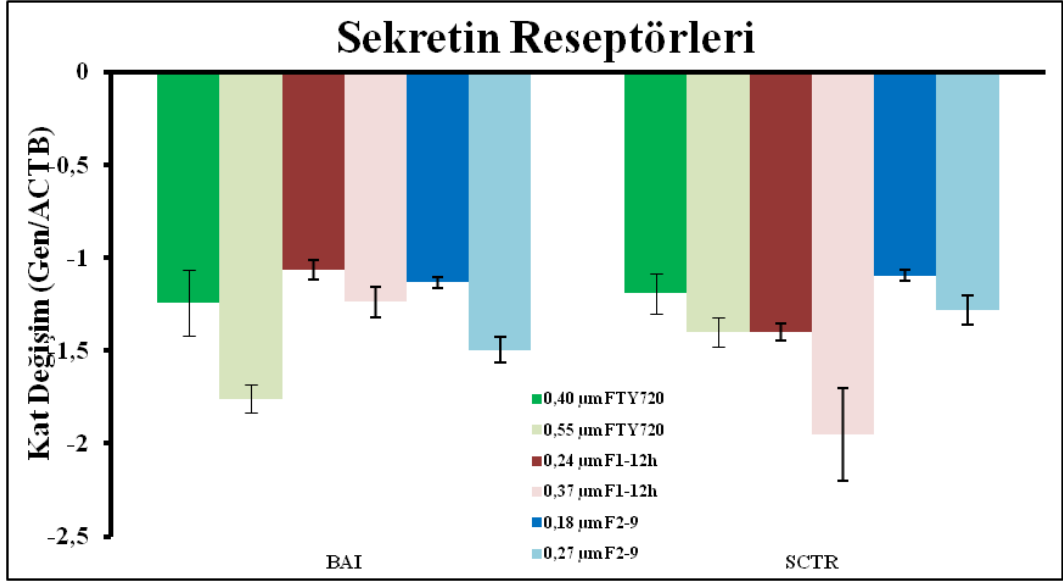
Metabotropik Glutamat ve GABA Reseptörleri: Metabotropik Glutamat ve GABA Reseptörleri katkı sağlayan 6 (CASR, GRM1, GRM2, GRM4, GRM5,

GRM7) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720 ve F2-9'un EC05 dozunda anlamlı bir değişiklik yokken, F1-12h'm EC05 dozunda GRM1 anlamlı olarak azalmaktadır. FTY720'un EC10 dozunda GRM1, GRM5 ve GRM7 anlamlı olarak baskılanırken, F1-12h için EC10 dozunda GRM1 ve GRM2 anlamlı olarak baskılanmaktadır. F2-9'un EC10 dozunda anlamlı bir değişiklik yoktur. SK-N-SH hücrelerinde bioaktif lipit reseptör genlerine katkı sağlayan dizin analiz sonucu Şekil 40'da sunulmaktadır.



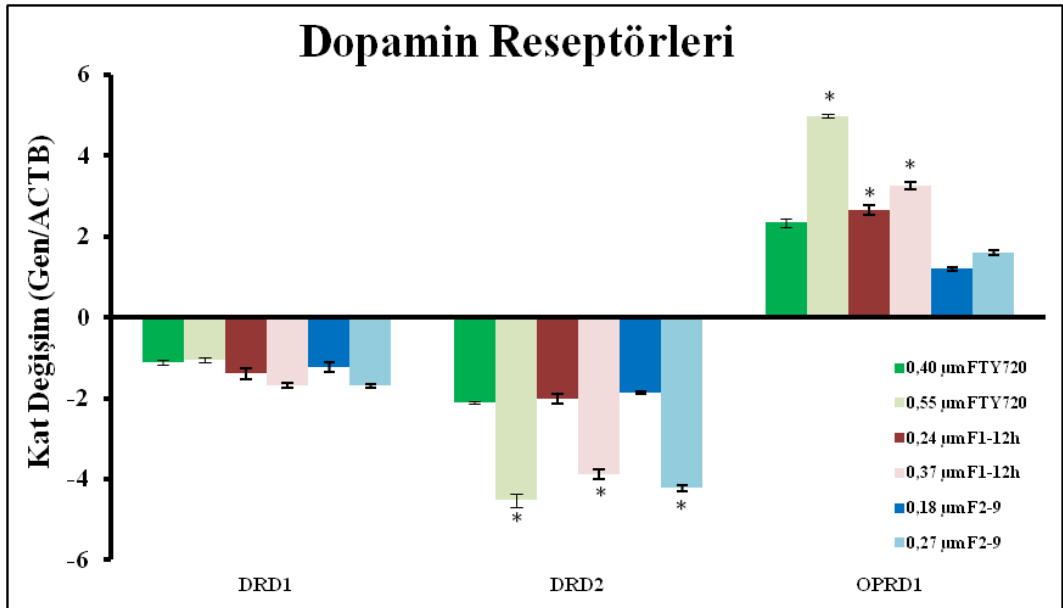
Şekil 40. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde metabotropik glutamat ve gaba reseptör genlerine etkisi

Sekretin Reseptörleri: Sekretin reseptörü olan 2 (BAI1, SCTR) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720, F1-12h ve F2-9'un EC05 ve EC10 dozunda anlamlı bir değişiklik yoktur. SK-N-SH hücrelerinde sekretin reseptör genlerine katkı sağlayan dizin analiz sonucu Şekil 41'de sunulmaktadır.



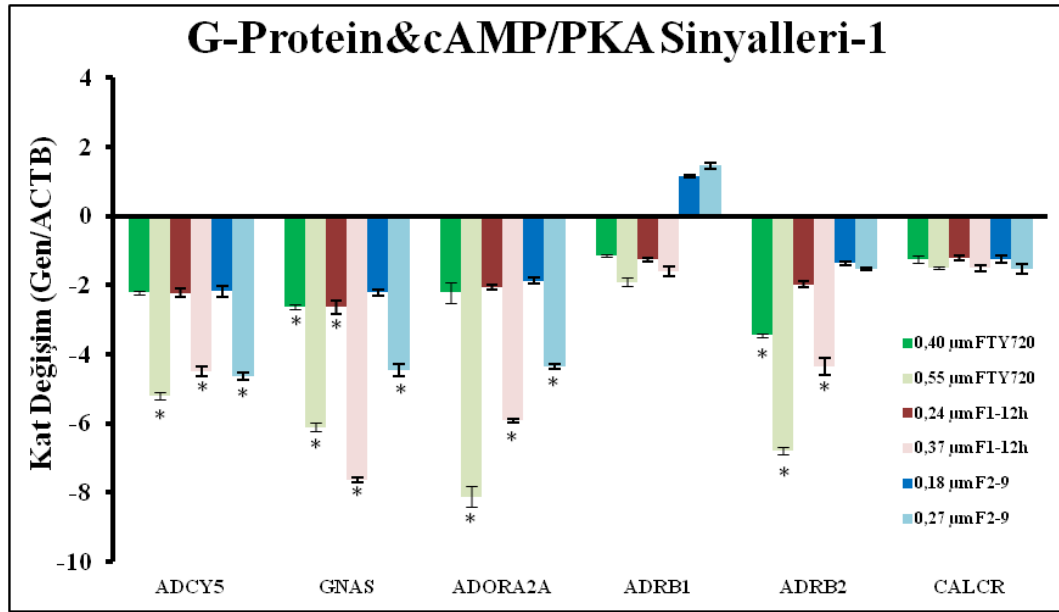
Şekil 41. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde sekretin reseptör genlerine etkisi

Dopamin Reseptörleri: Dopamin reseptörlerine katkı sağlayan 3 (DRD1, DRD2, OPRD1) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720 ve F2-9'un EC05 dozunda anlamlı bir değişiklik yokken, F1-12h'nin EC05 dozunda OPRD1 anlamlı olarak artmaktadır. DRD2 her üç bileşiminin EC10 dozunda anlamlı olarak baskılanmaktadır. FTY720 ve F1-12h'nin EC10 dozunda anlamlı olarak artmaktadır. SK-N-SH hücrelerinde dopamin reseptör genlerine katkı sağlayan dizin analiz sonucu Şekil 42'de sunulmaktadır.

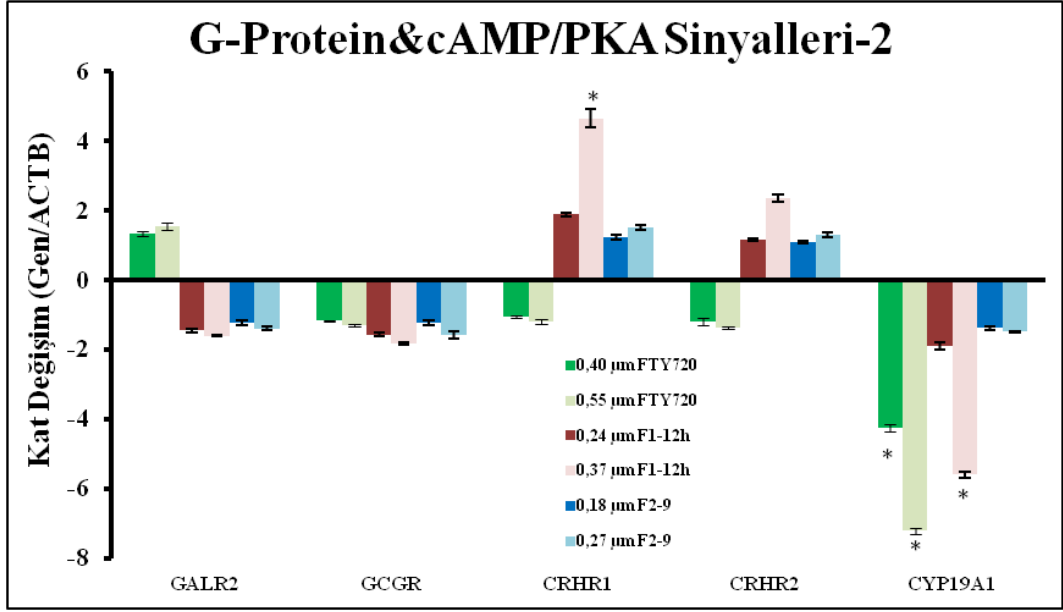


Şekil 42. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde dopamin reseptör genlerine etkisi

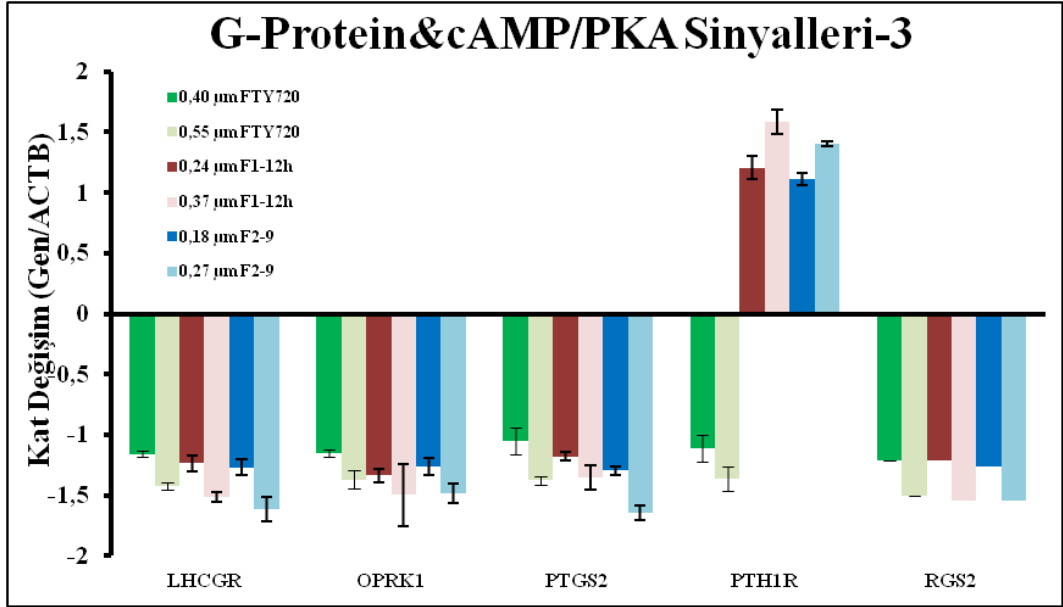
G protein cAMP/PKA Sinyalleri: G protein cAMP/PKA sinyallerine katkı sağlayan 21 (ADCY5, ADORA2A, ADRB1, ADRB2, CALCR, CALCRL, CRHR1, CRHR2, CYP19A1, GALR2, GCGR, GNAQ, GNAS, LHCGR, OPRK1, PTGS2, PTH1R, RGS2, TSHR, UCP1, RHO) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720'nin EC05 dozunda GNAS, ADRB2, CYP19A1 ve TSHR anlamlı olarak baskılanırken, EC10 dozunda ADCY5, GNAS, ADORA2A, ADRB2, CYP19A1 ve TSHR anlamlı olarak baskılanmaktadır. F1-12h için EC05 dozunda GNAS anlamlı olarak azalırken, EC10 dozunda ADCY5, GNAS, ADORA2A, ADRB2 ve CYP19A1 anlamlı olarak baskılanmakta, CRHR1 anlamlı olarak artmaktadır. F2-9'un EC05 dozunda anlamlı bir değişiklik yokken, EC10 dozunda GNAS, ADORA2A ve ADCY5 anlamlı olarak baskılanmaktadır. Her üç bileşikte cAMP ve PKA sinyallerine katkı sağlamaktadır. SK-N-SH hücrelerinde G protein cAMP/PKA sinyal genlerine katkı sağlayan dizin analiz sonucu Şekil 43-46 arasında sunulmaktadır.



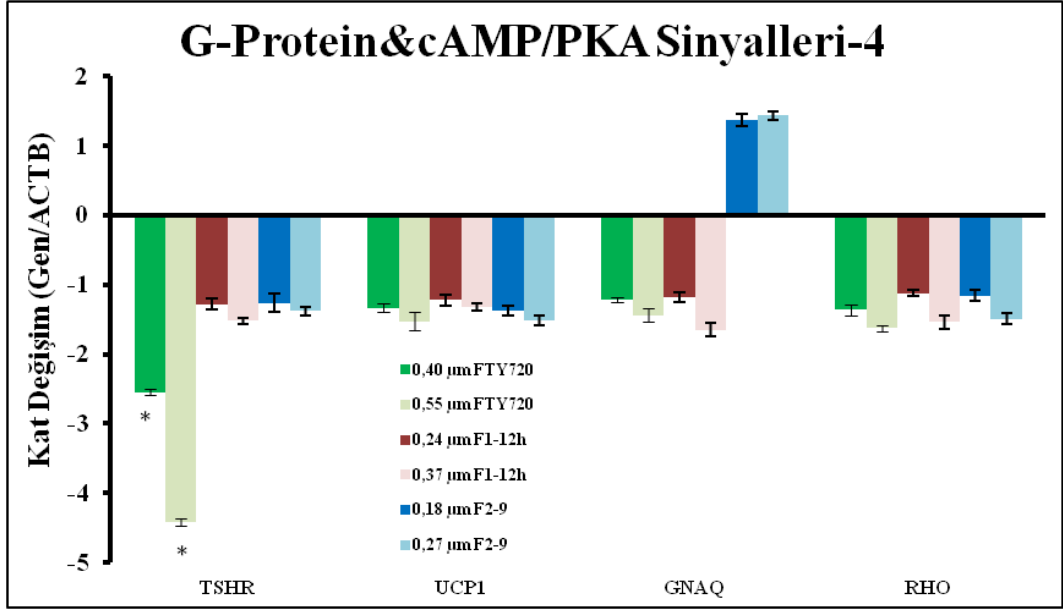
Şekil 43. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde G protein & cAMP/PKA genlerine etkisi 1



Şekil 44. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde G protein & cAMP/PKA genlerine etkisi 2

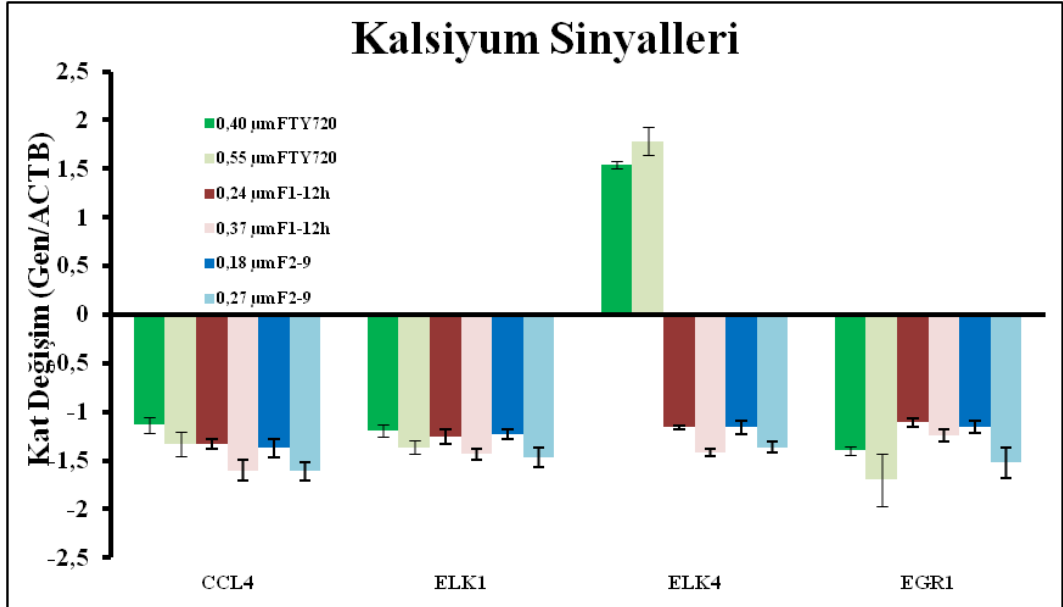


Şekil 45. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde G protein & cAMP/PKA genlerine etkisi 3



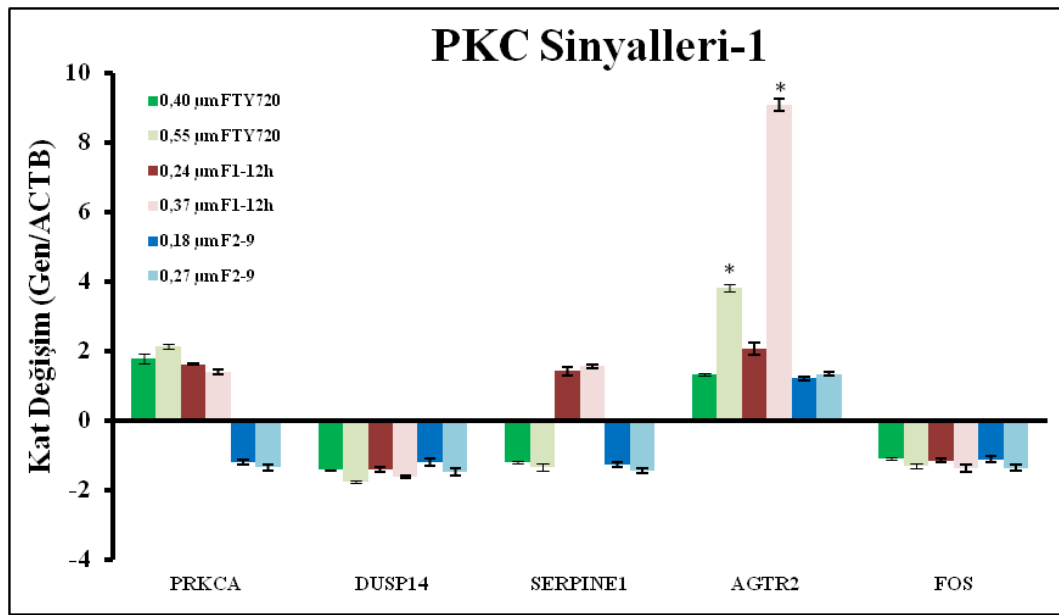
Şekil 46. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde G protein & cAMP/PKA genlerine etkisi 4

Kalsiyum Sinyalleri: Kalsiyum sinyallerine katkı sağlayan 4 (CCL4, ELK1, ELK4, EGR1) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720 ve türevlerinin EC05 ve EC10 dozunda anlamlı bir değişiklik yoktur. SK-N-SH hücrelerinde kalsiyum sinyal genlerine katkı sağlayan dizin analiz sonucu Şekil 47'de sunulmaktadır.

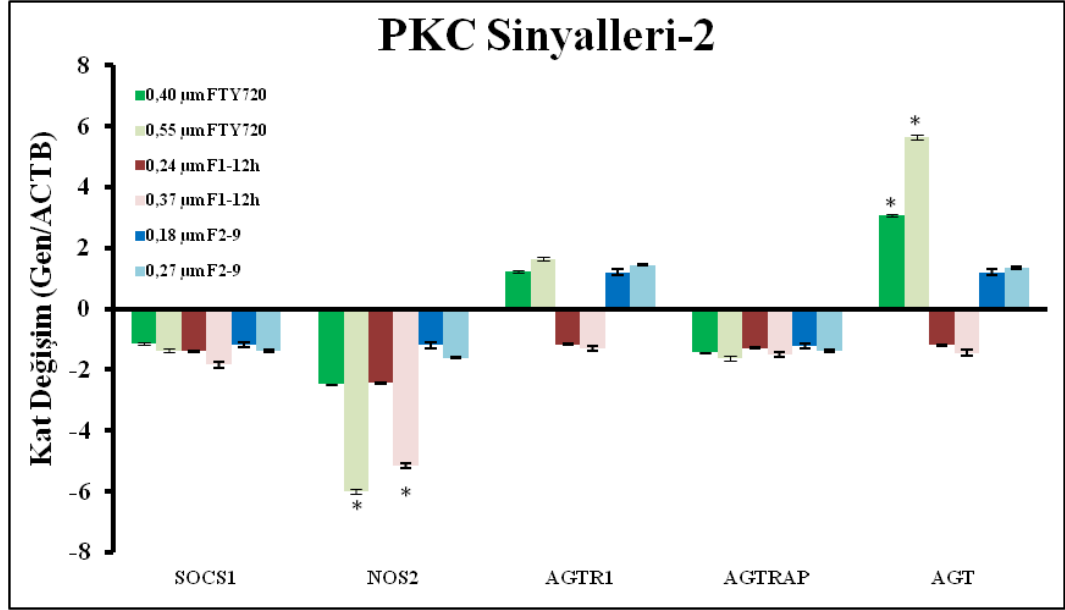


Şekil 47. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde kalsiyum sinyal genlerine etkisi

PKC Sinyalleri: PKC sinyallerine katkı sağlayan 10 (AGTR2, DUSP14, FOS, NOS2, PRKCA, SERPINE1, SOCS1, AGTRAP, AGTR1, AGT) adet gen den SK-N-SH hücrelerinde FTY720'nin EC05 dozunda AGT anlamlı olarak artarken, EC10 dozunda NOS anlamlı olarak baskılanmakta, AGT ve AGTR2 anlamlı olarak artmaktadır. F1-12h için EC05 dozunda anlamlı bir değişiklik yokken, EC10 dozunda AGTR2 anlamlı olarak artmakta, NOS2 anlamlı olarak baskılanmaktadır. F2-9'un EC05 ve EC10 dozunda anlamlı bir değişiklik yoktur. SK-N-SH hücrelerinde PKC sinyal genlerine katkı sağlayan dizin analiz sonucu Şekil 48-49 arasında sunulmaktadır.

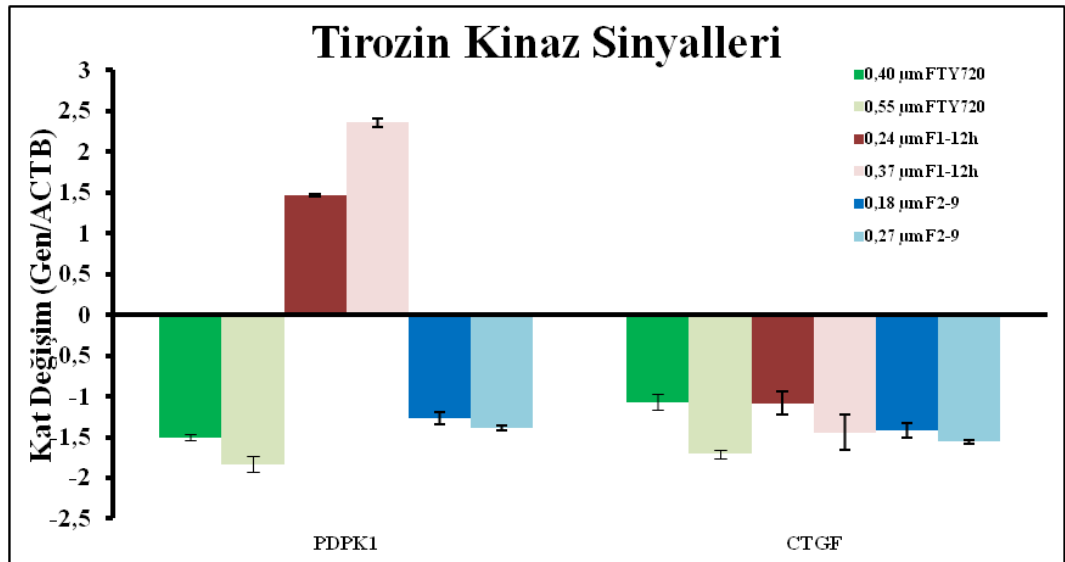


Şekil 48. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde PKC sinyal genlerine etkisi 1



Şekil 49. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde PKC sinyal genlerine etkisi 2

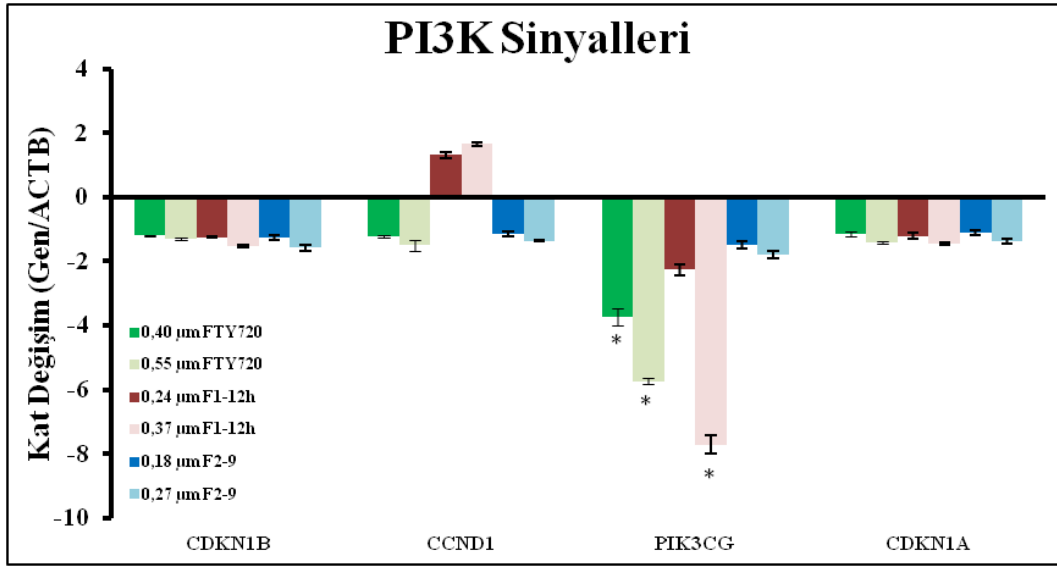
Tirozin Kinaz Sinyalleri: Tirozin Kinaz sinyallerine katkı sağlayan 2 (CTGF, PDPK1) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720 ve türevlerinin EC05 ve EC10 dozunda anlamlı bir değişiklik yoktur. SK-N-SH hücrelerinde tirozin kinaz sinyal genlerine katkı sağlayan dizin analiz sonucu Şekil 50’de sunulmaktadır.



Şekil 50. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde tirozin kinaz sinyal genlerine etkisi

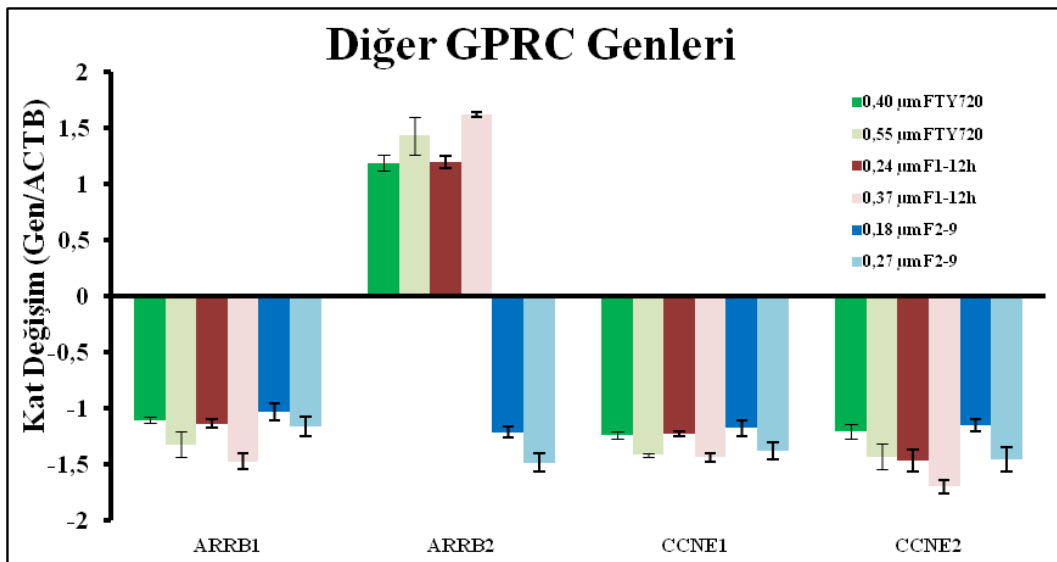
PI3K Sinyalleri: PI3K sinyallerine katkı sağlayan 4 (CCND1, CDKN1B, PIK3CG, CDKN1A) adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720’nin EC05 ve EC10 dozunda ve F1-12h’in EC10 dozunda PIK3CG anlamlı olarak

baskılanmaktadır. SK-N-SH hücrelerinde PI3K sinyal genlerine katkı sağlayan dizin analiz sonucu Şekil 51’de sunulmaktadır.



Şekil 51. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde PI3K sinyal genlerine etkisi

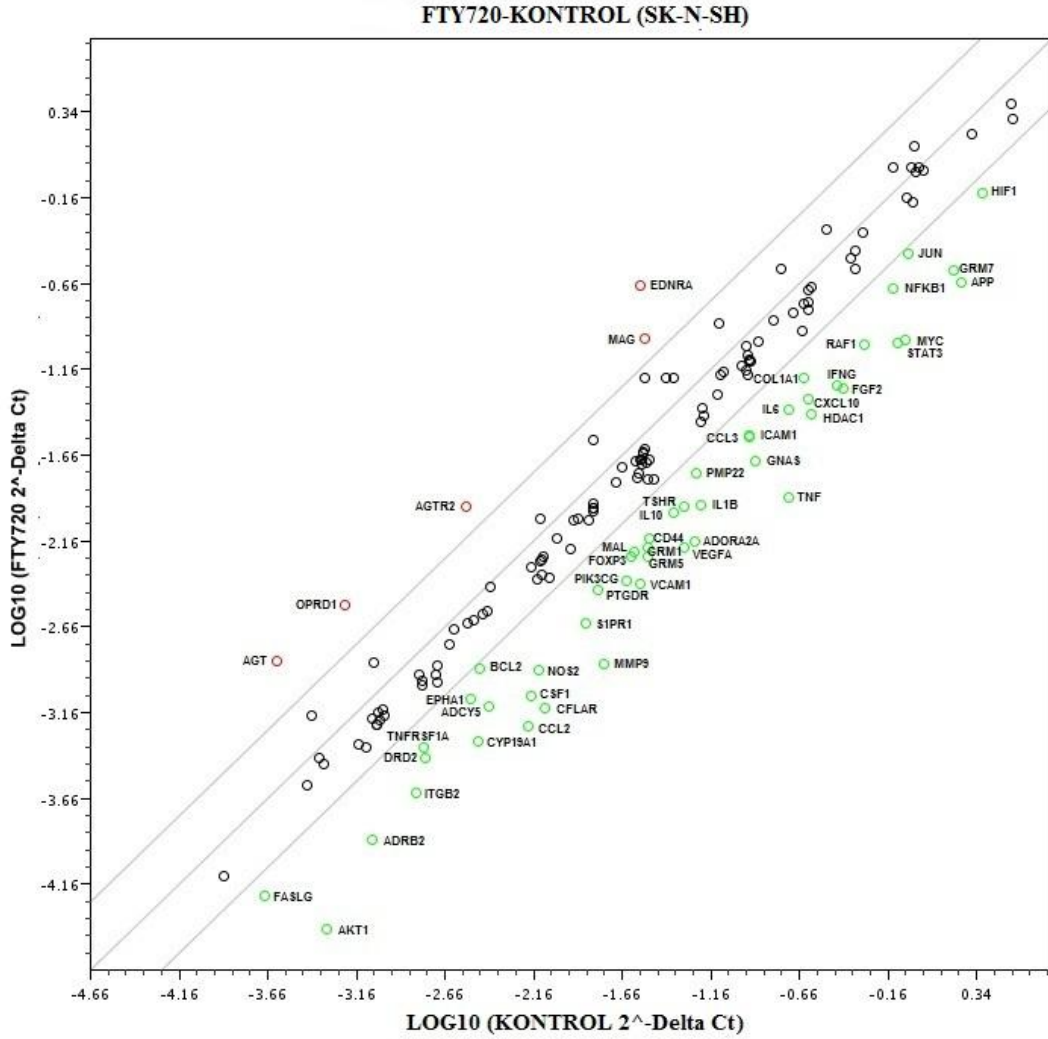
Diğer GPCR genleri: Diğer GPCR genlerine katkı sağlayan 4 adet genden SK-N-SH hücrelerinde FTY720, F1-12h, F2-9’un EC05 ve EC10 dozlarında anlamlı bir değişiklik yoktur. SK-N-SH hücrelerinde diğer GPCR sinyal genlerine katkı sağlayan dizin analiz sonucu Şekil 52’de sunulmaktadır.



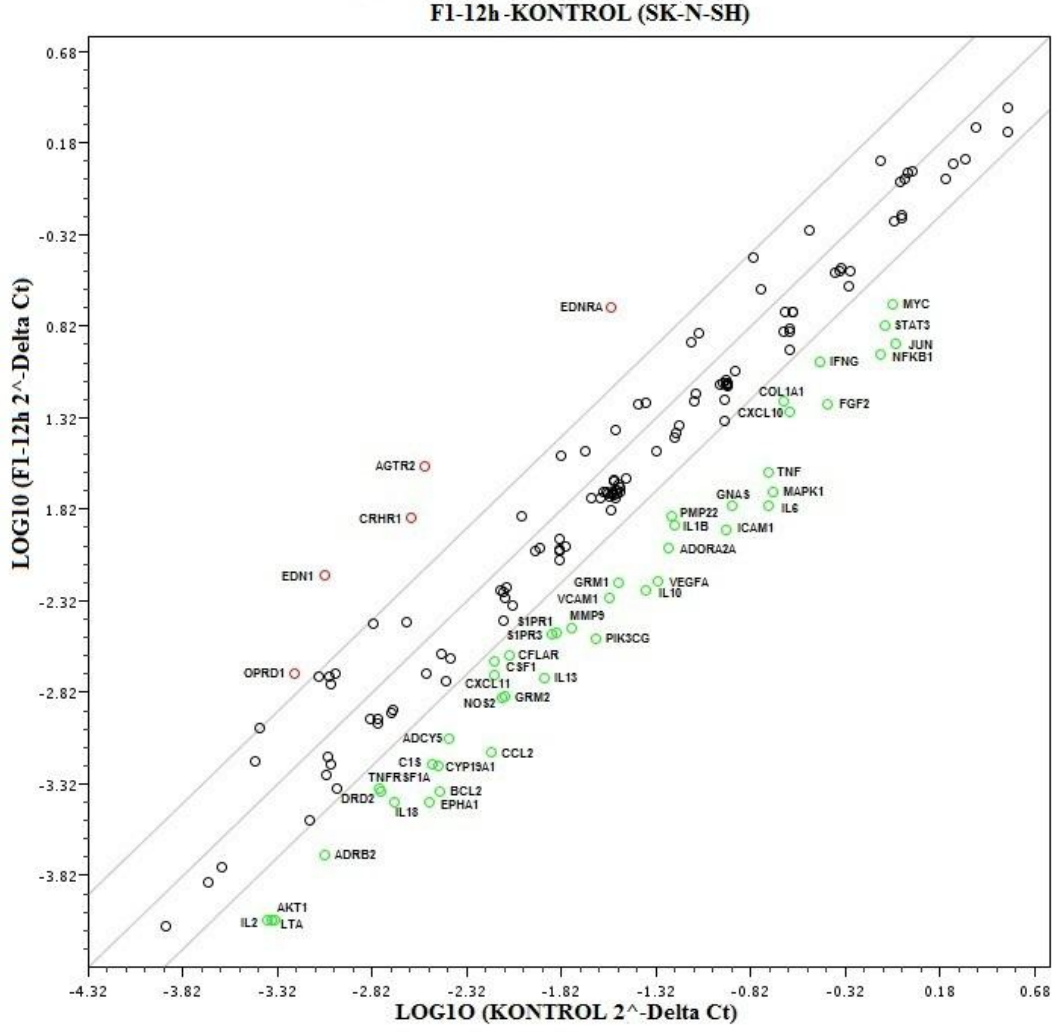
Şekil 52. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücrelerinde diğer GPCR sinyal genlerine etkisi

4.3.3 MS ve GPCR Dizin Analizleri

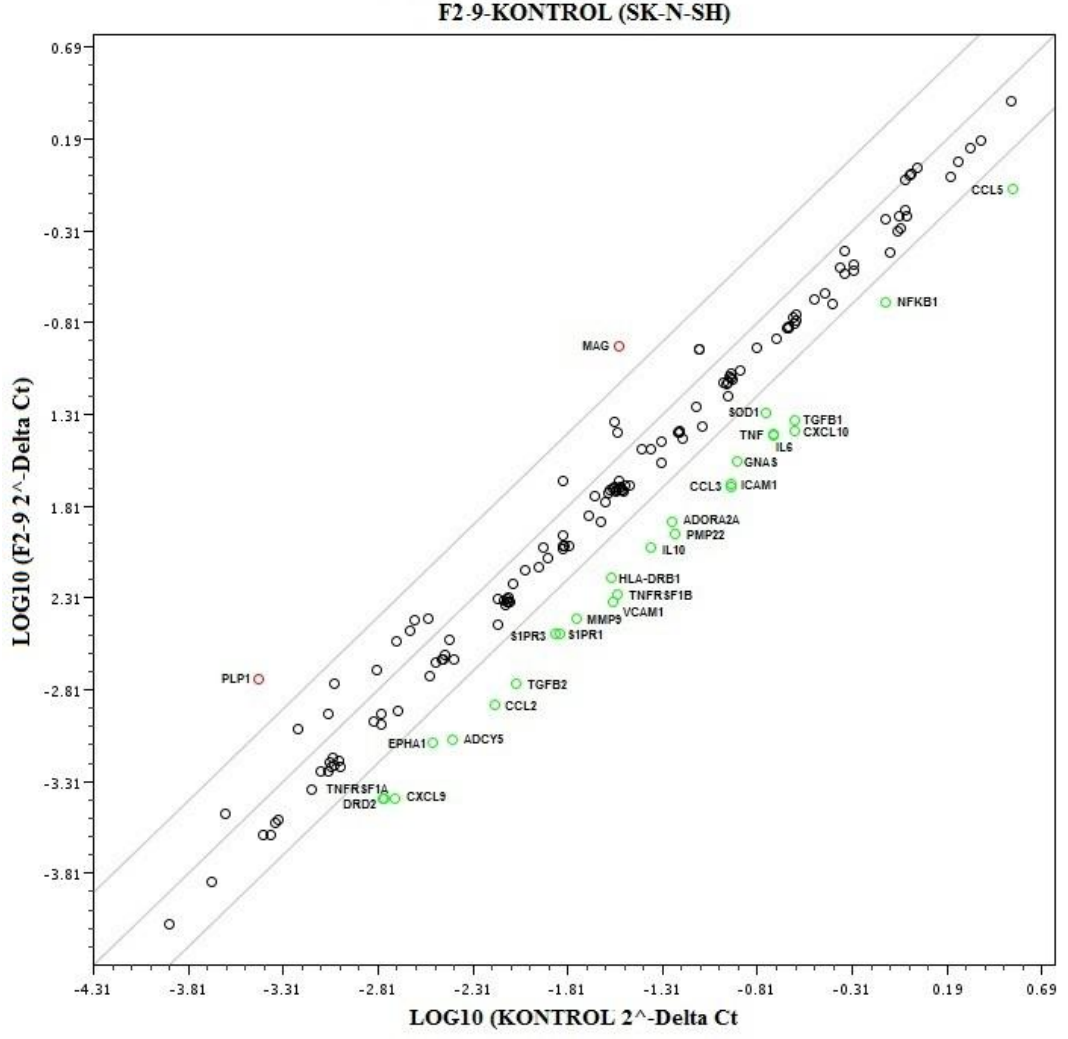
MS patogenezinde ve GPCR genlerinin düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülen genleri harmanlamak ve bir yolak çıkarmak için 'clustegram' ve 'scatter plot' grafikleri çizilerek daha ayrıntılı şekilde incelemiştir. EC05 dozunda çok anlamlı değişimler olmadığı için Şekil 53-56'da EC10 dozu verilmiştir.



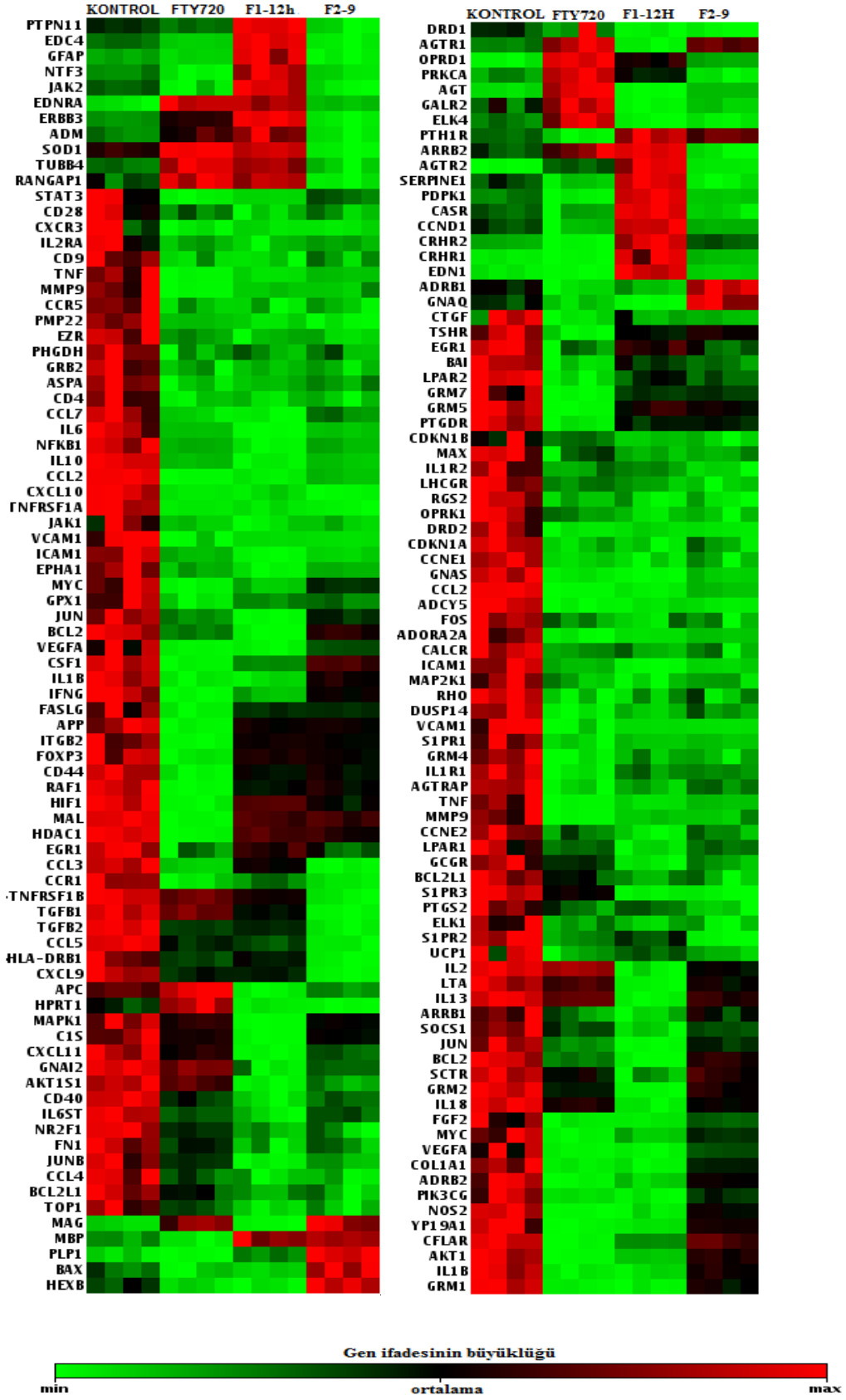
Şekil 53. FTY720'un EC10 dozunun SK-N-SH hücrelerinde MS ve GPCR sinyal genlerine etkisinin 'scatter plot' grafiği ile gösterimi



Şekil 54. F1-12h'nin EC10 dozunun SK-N-SH hücrelerinde MS ve GPCR sinyal genlerine etkisinin 'scatter plot' grafiği ile gösterimi



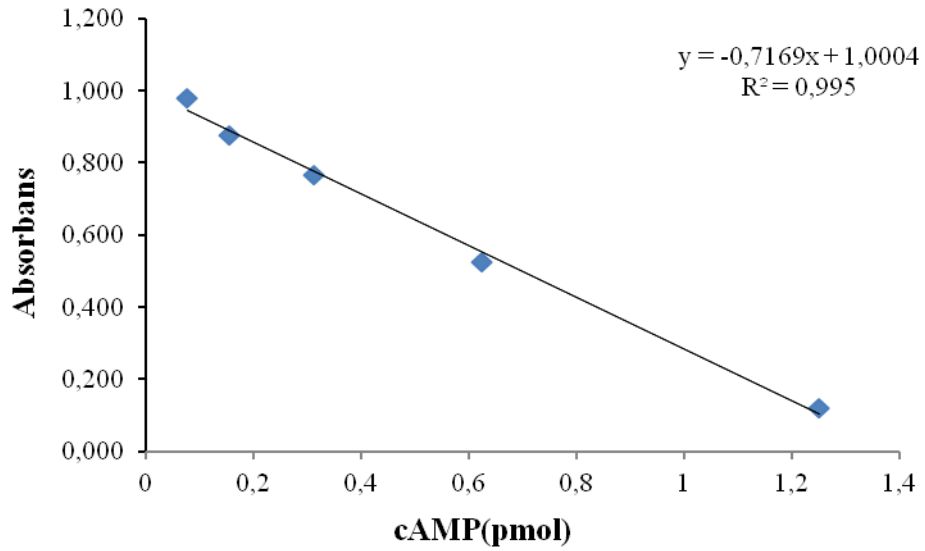
Şekil 55. F2-9'un EC10 dozunun SK-N-SH hücrelerinde MS ve GPCR sinyal genlerine etkisinin 'scatter plot' grafiği ile gösterimi



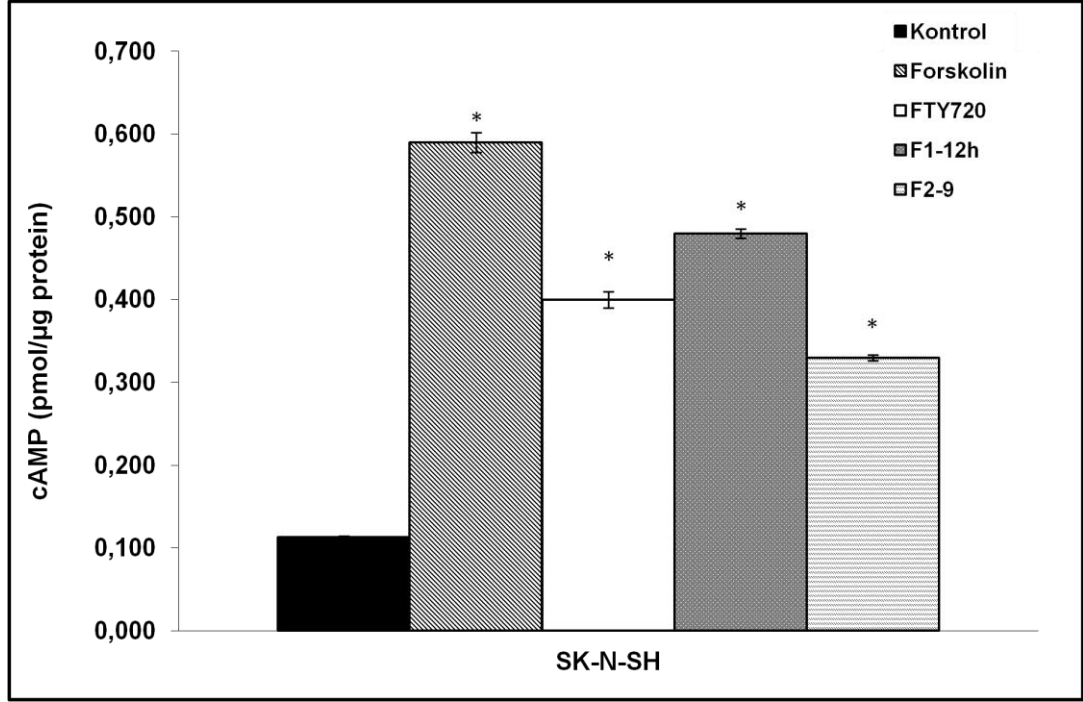
Şekil 56. FTY720, F1-12H ve F2-9'un EC10 dozunun SK-N-SH hücrelerinde MS ve GPCR sinyal genlerine etkisinin 'clustegram' grafiği ile gösterimi

4.3.4 Hücre cAMP Düzeylerinin Belirlenmesi

Sentezlenen FTY720 türevi bileşiklerin hücre içi çözünür cAMP düzeyinin saptaması GPCR dizin analizlerinden elde edilecek verilerin aynı zamanda validasyonuna da katkı sağladı. Çünkü bu reseptörler cAMP'yi ikincil haberci olarak kullanarak etki göstermektedirler. Bu amaçla kolorometrik 'cAMP direct immunoassay' kit kullanılarak hücre içi cAMP düzeyleri doğrudan hücre kültüründe tespit edildi. Manüel olarak ve özellikle de değişik bileşiklerle muamele edilmiş hücre hatlarında cAMP düzeylerinin tespiti çok zor olmasından dolayı, çok daha doğru ve tekrarlanabilen sonuç veren ve anti-cAMP antikoru kullanımına dayanan immünoassay tercih edilmiştir. cAMP miktarını hesaplamak için elde edilen kalibrasyon eğrisi şekil 57'de verilmiştir. FTY720 ve türevi bileşiklerin SK-N-SH hücre hattındaki cAMP miktarı şekil 58'de ve tablo 6'da verilmiştir. SK-N-SH hücre hattında her üç bileşikte de cAMP seviyesi kontrol hücrelerine göre artmaktadır. F1-12h, FTY720'ye göre daha fazla cAMP seviyesini artırmaktadır. F2-9'un cAMP seviyesi FTY720'ye göre daha azdır.



Şekil 57. cAMP kalibrasyon eğrisi



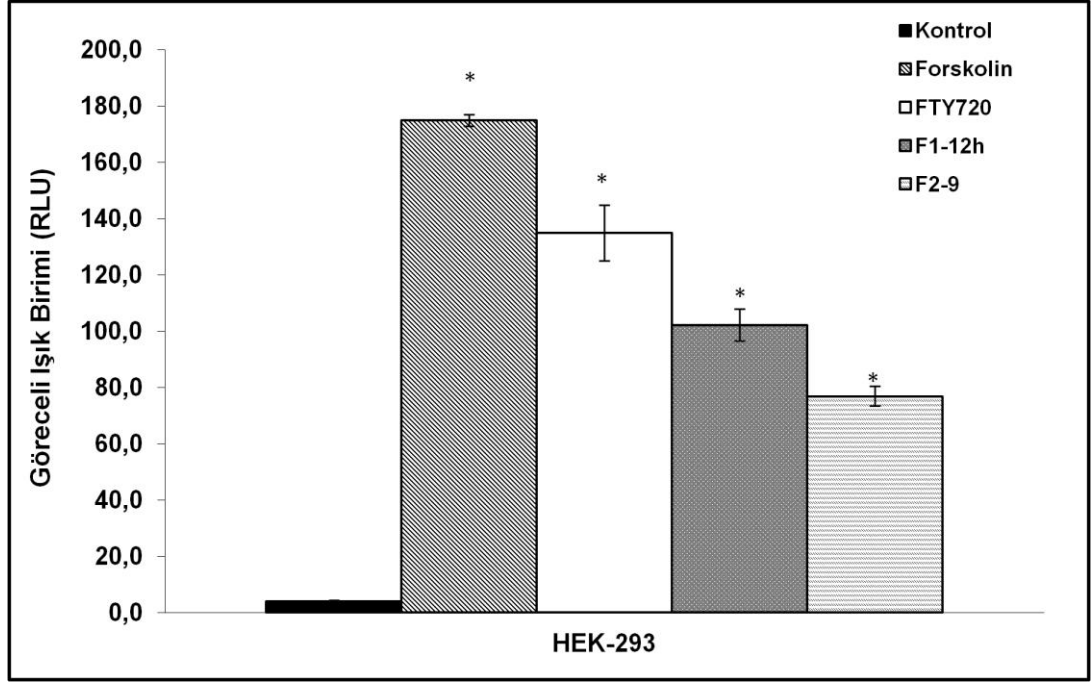
Şekil 58. SK-N-SH hücrelerinde FTY720 türevi bileşiklerin cAMP aktivitesi

Tablo 6. SK-N-SH hücrelerinde FTY720 ve türevi bileşiklerin cAMP aktivitesi

	cAMP Miktarı (pmol/µg protein)	Standart Sapma
SK-N-SH Kontrol	0,113	0,00456
Forskolin	0,590	0,00279
FTY720	0,400	0,00257
F1-12h	0,480	0,00574
F2-9	0,330	0,00234

4.3.5 FTY720 ve Türevlerinin CRE Geni Üzerine Etkisi

FTY720 cAMP aktivasyonunda kritik önem taşıdığından çalışmamızda FTY720 ve türevi bileşiklerin CRE geninin transkripsiyonel aktivitesi üzerindeki etkisi araştırıldı. Bu amaçla lüsiferaz sistemi ve ticari olarak tasarlanan pGL4.29 [luc2P/CRE/Hygro] plazmiti HEK293 hücrelerine transfekte edildi. Kontrol olarak cAMP miktarını artırdığı bilinen Forskolin kontrol olarak kullanıldı. FTY720 ve türevi bileşiklerin HEK-293 hücre hattındaki CRE miktarı şekil 59'da ve tablo 7'de verilmiştir. HEK-293 hücre hattında her üç bileşikte de cAMP seviyesi kontrol hücrelerine göre artmaktadır.



Şekil 59. HEK293 hücrelerinde FTY720 türevi bileşiklerin CRE miktarı

Tablo 7. HEK293 hücrelerinde FTY720 ve türevi bileşiklerin CRE miktarı

	Göreceli Işık Birimi (RLU)	Standart Sapma
HEK293 Kontrol	3,96	0,54
Forskolin	175,00	2,02
FTY720	134,99	9,90
F1-12h	102,17	5,66
F2-9	76,94	3,54

5. TARTIŞMA

Günümüzde Multipl Skleroz (MS) hastalığının etiolojisinden ve patafizyolojisinden kaynaklanan nedenlerin bilinmemesi ve hastalığın karakterinin heterojen nedenlerden kaynaklanmasından dolayı MS hastalığını tamamen yok edecek bir tedavi sistemi bulunmamaktadır. Hastalığın semptomik tedavisinde kullanılan FDA onaylı dokuz adet ilaç vardır. Bu ilaçlardan biri olan Fingolimod (FTY720) MS hastalığını tedavisinde kullanılan ilk oral ilaçtır. Etkisini lenf nodüllerinden lenfositlerin çıkışını düzenleyen S1P reseptörlerini modüle ederek gösterir. FTY720 kullanan hastalarda hastalığın nüks oranının azaldığı, engelliğin ilerlemesini yavaşladığı rapor edilmiştir ancak kesin tedavi sağlayamaz ve çok fazla yan etkisi vardır (Cohen ve Chun 2011). Bilim insanları ve ticari firmalar hastalığı tamamen iyileştirebilecek yan etkisi kullanılan diğer ilaçlara göre daha az alternatif tedaviler aramaktadır. Bu nedenle bu çalışmada mevcut ilaçlara göre daha fazla etkinlik gösterebilecek, yan etkileri daha az FTY720 benzeri yeni maddeler sentezlendi ve bu maddelerin immünomodülatör (bağışıklık sistemi düzenleyici) ve immünsupresif (bağışıklık sistemi baskılayıcı) özellikleri, miyelinizasyona ve hücre adezyonuna katkısı, apoptotik özellikleri, G proteine bağlı reseptör sinyal yollarına etkisi ve böylelikle MS üzerine etkileri ve etki mekanizmaları araştırıldı.

Tez kapsamında toplam 62 FTY720 serisi moleküllerinin 3D yapıları oluşturuldu. Moleküler modelleme çalışmalarımızda FTY720 seri maddeleri, iki hS1P1R kristal yapılarına Bezmîâlem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalında 'dock' edildi. 'Docking' sonuçları ligand seçme kriterlerine göre incelendi. hS1P1R'ye karşı yüksek ilgi duyması öngörülen maddeler sentez için seçildi. Sentezleri tasarlanmış bileşik için yapılan bilgisayarlı hesaplamalar sonucu etkin olma olasılığı ortaya çıkan bileşikler Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya bölümünde sentezlendi. Bileşikler sentezlendikten sonra MS çalışmalarında uygunluğu literatürde çeşitli çalışmalar ile gösterilmiş olan hücre hattında (insan nöroblastom hücre hattı (SK-N-SH)) biyolojik etkinlik çalışmaları gerçekleştirilmesine karar verildi. Bu deneyler için öncelikle uygun dozları belirlemek amacıyla bileşiklerin sitotoksikite çalışmaları gerçekleştirildi. Bu deneylerden NOEL ve LOEL benzeri değerler saptanmaya çalışıldı. Çünkü bu

denemeler için kanser çalışmalarının aksine, kullanılacak dozların hücre üzerine toksik etki göstermemesi gerekmektedir. Hücre kültürlerinde de NOEL ve LOEL doz tayinleri yapılması mümkün değildir. O nedenle bu değerlere yakın olabilecek 2 farklı doz (EC05 ve EC10) saptanarak etki belirleme çalışmalarında kullanıldı. Yapılan çalışmalar sonucunda EC05 dozunda her üç bileşikte de tam bir yolak mekanizması çıkarmak mümkün olmadı ama EC10 dozu toksik olmayan güvenilir dozda tam bir mekanizma çıkarmak için yeterliydi.

Toksik olmayan EC05 ve EC10 dozları belirlendikten sonra FTY720 ve türevleri için MS ve GPCR ile ilişkili genler ile moleküler gen ekspresyon çalışmaları gerçekleştirildi. Geniş kapsamlı yapılan gen ekspresyon çalışmaları ilaç-vücut etkileşimlerinin anlaşılması ve ilaç geliştirme çalışmaları için çok önemlidir. Organizmada en yaygın kullanılan sistem GPCR aracılı sinyal sistemidir. Günümüzde kullanılan ilaçların %50'sinin hedefi durumundadır. Bu nedenle GPCR sinyal yolağı ve bu yolağın diğer sinyal yolları ile etkileşimleri ilaç araştırma ve geliştirme çalışmaları için önem arz etmektedir. Bizde çalışmamızda ilaç araştırma ve geliştirmeye en aktif şekilde yanıt veren ve MS ile ilişkisi bulunan toplamda 20 farklı biyolojik yolakta 156 adet gen ve 3 adet normalizasyon geninin ekspresyon düzeylerini çalıştık. Seçilen biyolojik yollar (miyelinizasyon, T hücre aktivasyon ve sinyalleri, sitokin ve kemokinler, inflamasyonun düzenlenmesi, inflamatuvar cevap, nöronal apoptozis, apoptozis, hücre adezyon molekülleri, hücre stres, diğer MS genleri, biyoaktif lipid reseptörleri, metabotropik glutamat ve GABA reseptörleri, sekretin reseptörleri, dopamin reseptör sinyalleri, G protein & cAMP/PKA sinyalleri, kalsiyum sinyalleri, PKC sinyalleri, protein serin treonin kinaz sinyalleri, PI3K sinyalleri, diğer GPCR sinyalleri) çok geniş yelpazede veri üretecek şekilde ve temel genler olacak şekilde seçildi. Böylelikle çok geniş bir etki mekanizması tarama ve belirlenmesi hedeflendi. Bu yollar hemen hemen tüm fizyolojik mekanizmaları kapsayacak veriler üretilmesini sağladı. Böylece insan ve hayvan deneklerinde denenmeden önce etki mekanizmasında çalışılacak olan genler önceden belirlenmiş oldu.

MS ve GPCR genlerinin hücre ve dokuların çevresel uyarılara verdikleri cevaplar RT-PCR çalışmaları ile mRNA düzeyinde incelendi. RT-PCR uygulamalarında ilgilenilen genin ekspresyon düzeyinin incelenmesi için, farklı fizyolojik veya patolojik şartlarda ekspresyonu değişmeyen bir başka gen ürünü ile

normalize edilmesi gereklidir (normalizasyon). Normalizasyon amacıyla, çeşitli doku ve hücre tiplerinde ekspresyon düzeyi en az değişim gösteren 'housekeeping' genler kullanılmaktadır. Bu amaçla bu çalışmada en yaygın kullanılan normalizasyon genleri olan beta aktin (ACTB), Beta-2 mikroglobulin (B2M) ve Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) kullanıldı ve bu genlerin ekspresyon düzeylerinin, kontrol hücre ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişkenlik göstermediği sonucuna ulaşıldı. MS ve GPCR profillemeye çalışmaları FTY720'un EC05 dozunda 19 genin, EC10 dozunda 52 genin ifade düzeyinde kontrole göre anlamlı farklılıklar gözlemlendi. Bununla birlikte F1-12h'nin EC05 dozunda 18 gen, EC10 dozunda 48 gen anlamlı olarak değişirken, F2-9'un EC05 dozunda 4, EC10 dozunda 27 gen anlamlı olarak değişti. Bu genlerin tamamı kontrol grubuna göre değişiklik göstermekle birlikte 2,5 kat değişim gösteren genler anlamlı olarak alındı (Ekler Tablo A.5).

Yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre her bir yolak tek tek incelendi. Bu genlerin tez ile ilgili önemini anlatmak ve yorumlama getirebilmek için, kısa kısa teorik bilgilerle ele alınarak yapılan değerlendirmeler aşağıda verilmektedir.

MS lezyonlarının histopatolojisine bakıldığında; demiyelinizasyon, oligodendrosit hasarı, gliotik yara gelişimi ve nöroaksonal yaralanmalar ile şekillenmektedir. Sağlıklı insanlarda miyelin kılıf hasar görmesi durumunda öncül oligodendrosit hücrelerinin ürettiği miyelin proteinler tarafından tamir edilir. Ancak MS hastalarında bu mekanizmalar çalışmamaktadır. MSS işlevi bakımından miyelinizasyon önem arz etmektedir. Demiyelinizasyona yol açan inflamasyon ya da T hücre aktivitesi, miyelin temel protein (MBP), miyelin oligodendrosit glikoprotein (MOG), miyelin ilişkili glikoprotein (MAG), proteolipid protein (PLP) başta olmak üzere MSS miyelin proteinlerini hedeflemektedir. MS hastalığı ile ekspresyonu azalan PLP1, MSS'de ana miyelin proteini olan bir transmembran proteolipid proteini kodlar (Traka ve diğ. 2016). Miyelin yapısının kompakt halinde, oligodendrosit olgunlaşmasında, oligodendrosit akson interaksyonunda ve aksonların hayatta kalmasında rol alır (Campagnoni ve Skoff 2001). MSS, miyelininin bu temel bileşeni, MS ve akut dissemine ensefalomyelit gibi demiyelizan hastalıklarda otoimmün saldırı için aday antijenlerdendir. Miyelin kılıfının yapısında bulunan bir diğer protein MAG, immüoglobulin üst ailesinin bir üyesidir. Miyelin oluşturan hücreler (oligodendrosit ve Schwann hücreleri) arasındaki etkileşimleri düzenler (Quarles 1989). Diğer miyelin proteinlere kıyasla

MS plakları gelişirken erken kaybı bu hastalığın patagonezinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (Nakahara ve diğ. 2003; Quarles 2007). Demiyelinizan hasarlarda oligodendrosit öncül hücrelerinin remiyelinizasyonun en fazla olduğu dönemde ekspresyonları artmaktadır (Imitol ve diğ. 2002). FTY720 ve türevlerinin merkezi sinir sisteminde miyelin oluşumunda yer alan remiyelinizasyonu desteklemesi PLP1 ve/veya MAG genlerinin ekspresyonlarını artırması ile miyelin rejenerasyonunu desteklediğini göstermiştir. FTY720 uygulaması ile PLP1 ekspresyonu anlamı bir şekilde değişmezken, F1-12h ve F2-9 bileşiklerinin uygulamasında bu genin ekspresyonu önemli artışlar göstermiştir. Ayrıca MAG ekspresyonundaki artış FTY720 ve F2-9 bileşiklerinde görülmektedir. F2-9 bileşiği her iki geninde ekspresyon düzeyini artırarak miyelin rejenerasyonunu kontrol ilacımızdan (FTY720) daha fazla desteklediği görülmektedir.

MSS'nin ana miyelin proteinleri miyelinizasyon ve remiyelinizasyona tek başına katkıda bulunmaz, MSS'de bulunan diğer proteinlerde bu sürece destek olurlar. Bunlardan biri olan EDN1, demiyelinizasyondan sonra oligodendrosit hücre farklılaşmasını önler. EDN1 ve EDNRA sinyalleri oligodendrositler tarafından miyelin oluşumunu tetikler, remiyelinizasyon boyunca ekspresyonu artmaktadır (Jankowska-Lech ve diğ. 2015; Tracy ve diğ. 2013; Cannella ve diğ. 1999). FTY720 sadece EDNRA ekspresyonunu artırırken, F1-12h uygulama sonrası EDN1 ve EDNRA sinyallerinin artması remiyelinizasyonu FTY720'den daha fazla desteklediğini göstermektedir. Miyelinizasyona katkı sağlayan diğer bir protein MAL, oligodendrosit ve Schwann hücreleri tarafından farklı ekspres edilir ve farklı fonksiyonları vardır (Frank ve diğ. 1999). Bu proteolipid, sinir sistemindeki hücrelerin kompakt miyelininde lokalizedir ve miyelin biyogenezinde ve fonksiyonunda rol oynar (Frank 2000). MS hastalarında demiyelinizasyona bağlı olarak ekspresyonu artan MAL, (Tajouri ve diğ. 2007) FTY720 uygulaması sonucunda ekspresyonu baskılanarak remiyelinizasyona katkı sağlamaktadır. FTY720 ve F1-12 bileşikleri oligodendrositler tarafından miyelin oluşumunu tetikleyerek remiyelinizasyona destek sağlamaktadır.

Oligodendrositlerin hasarı, MS'de gelişen demiyelinizasyondan kısmen sorumludur. Oligodendrosit hasarı, inflamatuvar cevap sırasında gelişen immün mekanizmalar tarafından gerçekleşebilir. Aktive makrofajlar veya mikroglyal hücreler, TNF α veya IFNG gibi proinflamatuvar sitokinler salgılayarak

oligodendrosit hasarı oluşturabilmektedirler. IFNG gibi immün sitokinler MS gibi demiyelinize hastalıklarda önemli rol oynar. IFNG, T hücre salınımını engelleyerek miyelinizasyona katkıda bulunur (Moldovan ve diğ. 2003). MS lezyonlarında artış gösteren IFNG (Noronha ve diğ. 1993), FTY720 ve FTY720 kadar etkili F1-12h bileşiği uygulaması sonucu IFNG ekspresyonu baskılanarak miyelinizasyona katkı sağlayabilir.

Oligodendrosit hasarı oluşumunda bunların dışında reaktif oksijen ya da nitrojen türevlerinin oluşumu, glutamat gibi uyarıcı aminoasitlerin üretimi, kompleman komponentlerinin aktivasyonu, proteolitik ve lipolitik enzimlerin salınımı, perforin/lenfotoksin gibi T hücre ürünleri yoluyla T hücre kökenli hasarlanma sayılabilir. SOD1, reaktif oksijen türlerinin (ROS) süpürücü bir enzimdir ve daha çok apoptoz ve amyotrofik lateral skleroz (ALS) ile ilişkilendirilmiştir. Ancak MS lezyonlarında da miyelin, oligodendrosit ve nöronlarda ciddi oksidatif hasarlara neden olmaktadır (Haider ve diğ. 2011). Hastalığın başlangıç aşamasında ROS aktivasyonu kan beyin bariyerinin geçirgenliğini bozmaktadır (Schreibelt ve diğ. 2006; Van der Goes ve diğ. 2001). MS lezyonlarında ROS ve antioksidan enzimler arasındaki ilişki karmaşıktır. Yapılan çalışmalarda MS hastalarında antioksidan enzim seviyelerinde değişiklikler gözlenmiştir, bunlardan biride SOD1 enzimidir. Akut demiyelizan MS lezyonlarında SOD1 gen ve protein ekspresyon düzeyleri artmıştır (Tajouri ve diğ. 2003; Van Horssen ve diğ. 2008). FTY720 ve F1-12h bileşiklerinde anlamlı bir değişiklik gözükmemesine rağmen F2-9 bileşiği tarafından SOD1 genindeki baskılanma iki şekilde değerlendirilebilir. MS lezyonlarındaki artışın engellenmesi açısından bu düşüş önemlidir. Bu sonuçlar bileşiklerin oksidatif hasar oluşturacak bir ortam oluşturmadığı, bileşiklerin zararlı etkilerinin olmadığı şeklinde yorumlanabilir. Ancak oksidatif hasarın olduğu durumlarda SOD1'in baskılanması süpereoksit serbest radikallere karşı antioksidan görevinin yerine getirilmemesine ve hasar oluşumunun engellenememesine neden olabilir.

Son dönemde yapılan çalışmalarda MS'de spinal beyaz ve gri madde de gözlenen nörolojik bozuklukların hipoksi ilişkili olduğu ve gözlenen fonksiyon bozukları ve kayıplarının HIF1A ekspresyonu ve aktivasyonu ile doğrusal orantılı olduğu bildirilmiştir (Davies ve diğ. 2013; Gaber ve diğ. 2015). FTY720, HIF1A geninin ekspresyonunu değiştirerek ROS'ların oligodendrosit hasarına neden

olmasını engelleyebilir. F1-12h'm, SOD ve HIF1A gibi oksidatif şartlarda ekspresyonu değişen genler üzerinde hiçbir etkisi yoktur. Ancak ortamda oksidatif hasarın olduğu bir durumda yoktur. Oksidatif hasarın olduğu demiyelinize şartlarda bu genlerin ekspresyonları tekrar incelenmelidir. Ayrıca oksidatif şartlarda oligodendrosit hasarından bahsedilmektedir bu çalışma nöronlarda (SK-N-SH) gerçekleştirilmiştir. Daha anlamlı etkinlik görebilmek için oligodendrositler üzerinde de çalışılması gerekmektedir.

Yapılan çalışmada genler seçilirken merkezi ve periferel sinir sistemi gözetmeksizin miyelin mekanizmasını etkileyen genler olarak seçilmiştir. Periferel sinir sistemindeki ana miyelin proteinleri arasında PO ve PMP22 sayılabilir. PMP22, periferel sinir sistemindeki Schwann hücreleri tarafından ekspres edilir. Miyelin kılıfın %2-5'ini oluşturur (Quarles 2002). Periferel sinir sistemindeki miyelinizasyona katkı sadece ana miyelin proteinleri sağlamaz. Örneğin HEXB, miyelin yapısı ve fonksiyonu için periferel sinir sistemindeki önemli bir genidir (McNally ve diğ. 2007; Xu ve diğ. 2010). HEXB, kofaktör GM2 aktivatör proteini ile gangliosit GM2'nin degradasyonunu katalizler. Hekzoaminidazların farklı genler tarafından kodlanan alfa ve beta olmak üzere iki alt ünitesi bulunmaktadır. Bu gende gerçekleşen mutasyon GM2 gangliositlerinin nöronlarda birikmesine ve böylece nörodejeneratif hastalıklara sebep olurlar. Beta alt ünitesindeki mutasyon Sandhoff hastalığına, alfa alt ünitesindeki mutasyon ise Tay-Sachs hastalığına neden olmaktadır. Şiddetli miyelin dejenerasyonu ile karakterizedir. F2-9 bileşiği uygulaması sonucu sadece HEXB ekspresyonu artmaktadır. Bu durumda merkezi sinir sistemini etkileyen MS hastalığı dışında periferel sinir sistemini de etkileyen Sandhoff, Guillain-Barre sendromu gibi demiyelinize karakterli periferik sinir sistemi rahatsızlıkları için de F2-9 bileşiğinin umut vaad edebileceğini göstermiştir.

FTY720, F1-12h ve F2-9 MS'de tanımlanan demiyelinizasyon mekanizmalarına karşı ana miyelin proteinlerin ekspresyonlarını artırarak, proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmalarını engelleyerek (FTY720 ve F1-12h bileşiklerinde) ve oligodendrosit hasarı oluşumunda reaktif oksijen türevlerine karşı koruyarak (FTY720 ve F2-9 bileşiğinde) remiyelinizasyonun desteklenmesine katkı sağlamaktadır. Ekspresyon düzeyleri incelendiğinde her üç bileşik içinde miyelin rejenerasyonunu tetiklediğini söyleyebiliriz ancak MSS'nin bir hastalığı olan MS'de F2-9, diğer iki bileşiğe göre remiyelinizasyon mekanizmasında daha etkilidir.

MSS'de, aksonun bulunmadığı *in vitro* koşullarda oligodendrositlerde miyelin gen ekspresyonu artabilmekte, ancak gen ekspresyonunun yüksek seviyelere ulaşabilmesi ve miyelin yapısının oluşabilmesi için aksonal etkileşim gerekmektedir (Benjamins 2003). Bu yüzden hastalığın ilerleyen evrelerinde nöroaksonal yaralanmalar gerçekleştikten sonra bu bileşikler miyelin gen ekspresyonlarını artırsa bile etkili olmayabilir.

MS dizin çalışmalarımızda farklılık tespit ettiğimiz ikinci grup genler T hücre aktivasyonu, sitokin ve kemokinler ve inflamasyon ile ilişkili genlerde ortaya çıktı.

MS aktive olmuş miyelin spesifik CD4⁺ T hücrelerin MSS'ne girmesiyle oluşan inflamatuvar demiyelinizan bir hastalıktır. MSS'ne giren CD4⁺ T hücreler, antijen sunucu hücrelerle karşılaşınca lokal olarak aktive olurlar ve farklı sitokin profili ve etki mekanizmalarına sahip olan Th1 ve Th2 hücrelere dönüşürler. Normalde proinflamatuvar (Th1) ve antiinflamatuvar (Th2) sitokinler arasında ince bir denge söz konusudur. MS'de oluşan inflamasyonun temel sebebi, proinflamatuvar Th1 hücrelerinin aşırı aktive olmasıdır. IL1B, MS gibi immün aracılı hastalıklarda immün cevap üzerinde etkili proinflamatuvar sitokindir. Monosit, mikroglial hücreler, astrositler ve endotel hücreler tarafından üretilir ve aktif lökositlerin MSS'ne transendotelial taşınımını kolaylaştırır (Maghzi ve Minagar 2014). IL1, antijen sunan hücrelerin kapasitesini artırır. B lenfositlerinin proliferasyonunu, immünglobulin sentezini ve hücre yüzeyinde immünglobulin reseptörlerinin sayısını artırarak inflamasyona sebep olur. IL1, T hücrelerinden IL2 salgılanmasını ve bu hücrelerin yüzeyinde IL2 reseptörlerinin sayısını arttırarak da T hücrelerinin çoğalmasını sağlar. IL1B ekspresyon seviyesi FTY20 ve F1-12h tarafından baskılanırken, MS hastalarında ekspresyon seviyesi artan IL2 (Lopez ve diğ. 1999), sadece F1-12h tarafından baskılanarak T hücre aktivasyonunun baskılanmasına önemli katkılar sağlamaktadır. IL2, IL18 ile beraber hücre aracılı immüniteyi indükler. IL18, aktive olduktan sonra doğal öldürücü hücreler ve bazı T hücreleri makrofaj ve diğer hücrelerin aktivasyonunda önemli rol oynayan IFNG salınımını sağlar. Bu yüzden IFNG uyarıcı faktör olarak da bilinir (Ushio ve diğ. 1996). Fizyolojik rolü dışında Hashimoto tiroidi, Alzheimer, yaşa bağımlı makula dejenerasyonu, MS gibi inflamatuvar hastalıklarda rol oynar. MS hastalarında seviyesi artan IL18 (Losy ve Niezgoa 2001), F1-12h bileşiği uygulaması sonucunda baskılanmıştır. Ayrıca IFNG

uyarıcı faktör olan IL18'in baskılanması IFNG ile doğru orantılıdır. F1-12h bileşiği IL2 sinyal yolağı üzerinden IL18 ve IFNG ekspresyon düzeyini baskılayarak hücre aracılı immünitinin baskılanmasına önemli katkı sağlar. FTY720 uygulaması sonucu baskılanan IFNG hücreyel immünitinin baskılanması sonucu salınan bir sitokin değildir. FTY720 ve F2-9'un hücreyel immünitinin baskılanmasına bir katkısı yoktur.

Bir diğere proinflamatuvar sitokin IL6, inflamasyonda ve B hücrelerinin olgunlaşmasında rol oynar. Otoimmün hastalıklarda enfeksiyon indüklemeye yeteneğine sahip olan bir endojen pirojendir. Bu proteinin özellikle serum içinde salgılanması ve IL6RA ile transkripsiyonel inflamatuvar yanıtı neden olduğı akut ve kronik inflamasyon bölgelerinde gösterilmiştir (Krumbloz ve meintl 2014). IL6 seviyesi, MS hastalarında oligodendrosit kaybı ile korele bir şekilde demiyelinize plaklarda artmaktadır (Schönrock ve diğ. 2000). İnflamatuvar hastalıklarla IL6 ile orantılı olarak artan TNF α geni çok fonksiyonlu bir proinflamatuvar sitokini kodlar. Hücre çoğalması, farklılaşma, apoptoz, lipid metabolizması ve pıhtılaşma dâhil çok geniş bir yelpazede biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde yer almaktadır. MS gibi otoimmün hastalıklar ile insülin direnci ve kanser gibi hastalıklarda çeşitli rol oynadığı gösterilmiştir (Probert, 2015). Her üç bileşikte IL6 ve TNF'nin ekspresyonlarını baskılayarak proinflamatuvar sitokin salınımını engellemektedir. TNF birçok hücre tarafından salgılanan, TNF α ve TNF β (LTA) olmak üzere iki formu bulunan bir sitokindir. TNF β , T hücre lenfositleri tarafından salınır. Parakrin olması nedeniyle az miktarda üretilir. Etkisi TNF α 'ya benzer ancak TNF β ayrıca lenfoit organların gelişmesi için önem arz eder. TNF β 'da oluşan Ncol polimorfizminin MS hastalarında artan inflamatuvar ve metabolik belirteçler ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Kallaur ve diğ. 2014). F1-12h, TNF β 'yı baskılayarak artan inflamatuvar belirteçleri baskılamıştır. F1-12h, FTY720 ve F2-9 bileşiğine göre proinflamatuvar sitokinlerin baskılanmasında daha etkilidir. Makrofaj ve bazı diğere hücreler tarafından salınan TNF α gibi çok önemli proinflamatuvar sitokininin baskılanması üç bileşik açısından da önemlidir. Ancak T hücre lenfositleri tarafından salınan TNF β 'nin sadece F1-12h tarafından baskılanması MS'e neden olan T hücre aktivasyonunun ve inflamasyonun baskılanması açısından önemlidir. Çünkü MS'de temel immünolojik bulgular arasında çoğunlukla aktif T lenfosit sayılarında dolayısıyla T lenfositler tarafından salınan sitokinlerde artma gözükmeğedir.

TNF α , TNF β , IL1B, IL2, IL6, IL18 ve IFNG, Th1 kaynaklı proinflamatuvar sitokinlerdir. Kronik Th1 uyarısı MS, haşimato tiroiditi, Tip 1 diyabet, Crohn hastalığı, sarkoidoz gibi otoimmün hastalıklara ve kronik inflamasyona yol açar. FTY720, F1-12h ve F2-9 bileşikleri proinflamatuvar sitokinlerin baskılanmasına katkıda bulunur. FTY720 ve F1-12h bileşikleri T ve B hücrelerin antijene bağlı aktivasyonunun engellenmesinde temel rol alırlar. Ayrıca F1-12h, hücrel immün yanıtta rol oynayan T hücrelerinin artan dirençlerinin bastırılmasında etkilidir. Çoğunlukla proinflamatuvar Th1 kaynaklı inflamasyona bağlı oluşan MS'in engellenmesinde F1-12h bileşiği MS tedavisinde kullanılan FTY720'den daha etkilidir.

Th2 hücreleri tarafından sentezlenen sitokinler humoral immünyete rol oynarlar, B hücresi gelişimi ve farklılaşmasında etkilidirler. Th1 ve Th2 hücreleri ayrıca birbirleri üzerinde de karşılıklı etkilere sahiptirler. Örneğin IL10 aslında Th2 sitokinidir, Th1 hücreleri tarafından sitokin sentezi inhibe edilir. Bu olay MS gibi otoimmün hastalıklarda potansiyel role sahiptir. Yapılan çalışmalar MS hastalarında IL10 ile korele bir şekilde IFNG'nın salınımının arttığını göstermiştir (Ozenci ve diğ. 1999; Ersoy ve diğ. 2005). B hücreleri ve makrofajlar IL10'u ekspres ederler. IL10, T lenfosit, makrofaj ve sitokinlerinin sentezini önler. Her üç bileşikte IL10 ekspresyonunu baskılayarak humoral immünyetenin baskılanmasına neden olurlar. Özellikle F1-12, hem humoral hem de yukarıda bahsedildiği gibi hücrel immünyetenin baskılanmasında diğer iki bileşikten daha etkilidir. Bir diğer Th2 kaynaklı sitokin IL13, matriks metalloproteazları indükler. Alerjik astım, mukus salınımı eosinofilik inflamasyonda önemli rol oynar. B hücre kronik lenfositik lösemi ve Hodgkins hastalığı gibi hastalıklarda tedavi ajanı olarak kullanılır. IL13 üretimi IL4, IL12, IL18, IFNG, IL10, TGF β , TNF α ile ilişkilidir (Wynn 2003). IL13, MS hastalarında nöron koruyucu etkisi işe birlikte, sinaptik fonksiyon modülasyonunda da yer alır (Rossi ve diğ. 2011). F1-12h bileşiği uygulaması sonucunda IL13 ve MS'de KBB hasar sürecinde aktif rol alan MMP9 birbirleriyle korele bir şekilde baskılanmaktadır. F1-12h anlamlı bir şekilde baskılanması nöron koruyucu bir bileşik olduğunu göstermiştir ayrıca MMP9'un IL13 aracılığı ile baskılanması sonucunda KBB bariyerinin bütünlüğünü de sağlayabilir. Diğer iki bileşiğin IL13 üzerinde anlamlı bir etkisi yoktur.

Prostaglandin D2 (PTGD2) CD4⁺ efektor Th2 hücrelerinde ekspres edilir, inflamasyon boyunca mast hücrelerinden salgılanır. PTGD2 ve reseptörleri (PTGDR) özellikle eozinofil, bazofil ve Th2 lenfositleri oluşturduğu proinflamatuvar kemotaksiste de önemli rol oynar. FTY720 inflamatuvar cevap oluşturmak için PTGD2 seviyesini azaltmaktadır. F1-12h ve F2-9 bileşiklerimizin PTGD2 üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır.

TGFB1 hematopoetik hücrelerde çeşitli etkileri olan güçlü bir düzenleyici sitokindir (Goris ve diğ. 2007). TGFB1'in bağışıklık sistemindeki önemi lenfosit proliferasyonu, farklılaşması ve fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli rolleri vardır (Kim ve diğ. 2005). T hücreleri arasında, CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺-Treg hücreleri TGFB1'in önemli kaynağıdır ve inflamasyon oluşan bölgelerde bağışıklık yanıtı bastırır (Marie ve diğ. 2006). Native yardımcı T hücresi (Th0) ortamda TGFB varlığında düzenleyici T hücreye dönüşürken, TGFB ile beraber IL6 varlığında Th17 dönüşümü olur ve Th17 hücreleri IL17 proinflamatuvar sitokininin salınımıyla beraber otoimmün hastalıkların gelişiminde önemli bir rol üstlenirler. Antiinflamatuvar olan TGFB, Th17 hücrelerinin oluşumunda rol aldığı için bazı bilim insanlarına göre proinflamatuvar olarak kabul edilmektedir. Aslında bu durum proinflamatuvar ve antiinflamatuvar bağışıklık hücreleri arasındaki dengesizliğin otoimmüniteye önemli bir bağlantı olabileceğini düşündürmektedir. TGFB1 ekspresyonu veya onun T hücreleri üzerindeki sinyal kusurları çeşitli otoimmün hastalıkların başlangıcı ile bağlantılıdır. Bu nedenle TGFB1'in MS gibi oto bağışıklık hastalıklarının kontrolü için terapötik seçenek olarak önerilmektedir (Mirshafiey ve Mohsenzadegan 2009). F2-9 bileşiği uygulaması sonucunda IL6 ve TGFB'nin baskılanması MS oluşumunda çok önemli Th17 hücrelerinden IL17 salınımını engelleyebilir. FTY720 ve F1-12h'in TGFB üzerinde etkisi yoktur.

IL10 ve IL13 gibi Th2 hücreler alerjenlere ve parazitlere yanıt verirler, enfeksiyona yanıtı yetersizdir. Ancak Th1 ve Th2 sitokinler arasında denge önemlidir. Salınımları pro-inflamatuvar sitokinlerle korele bir şekilde değişmektedir. FTY720 ve F1-12h bileşikleri IL10 ve IFNG salınımının azalması T hücre aktivasyonunun baskılanması açısından önemlidir. F1-12h bileşiği, IL13'ü ekspresyonunun MMP9 ile korele bir şekilde değişmesini sağlayabilir ve MMP9'u baskılayarak kan beyin bariyerinin geçirgenliğini azaltabilir. F2-9, TGFB'yi

baskılayarak MS oluşunda çok önemli Th17 hücrelerinden IL17 salınımını engelleyebilir.

Kemokinlerin, inflamasyon ve infeksiyonlara karşı konakçı cevabında lökositlerin dokulara yerleşimi önemli bir basamağı teşkil etmektedir. Kemokinler, lökosit-endotelyal hücre ilişkilerinde, T ve B hücre matürasyonunda, immün denetim, tolerans ve immünitinin oluşumunda, T-B hücre iletişimde ve primer immün cevabın oluşmasında etkin olmaktadır. İnflamasyon boyunca kemokinlerin sekresyonunda dramatik bir şekilde artışı gözlenmektedir. MS’de de birçok kemokin rol oynamaktadır. MS’de rol oynayan kemokinler CCL2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 17, 19, 20, 21; CXCL1, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ve CX3CL1 ve kemokin reseptörleri CCR1, 2, 3, 4, 5, 6, 7; CXCR1, 2, 3, 4, 5, 7 ve CX3CR1’dir (Cheng ve Chen 2014). MS patojenezinde önemli bir marker protein olan CCL5, sinir sisteminde inflamatuvar tepkinin artmasına neden olur (Ozgun-Acar ve diğ. 2016). Kontrol değerleri ile karşılaştırıldığında hastalıkta CCL5 ekspresyon düzeyinin arttığına dair veriler literatürde mevcuttur (Iarlori ve diğ. 2000). CCL5’in ayrıca MS hastalığında plak oluşumunda da rol oynadığı gösterilmiştir (Simpson ve diğ. 1998). FTY720 ve F1-12h uygulanan dozlarda, CCL5 üzerinde anlamlı bir etkiye sahip değilken, F2-9, CCL5 ekspresyonunu baskılamaktadır. CCL5 gibi hastalık patogenezinde önemli bir geni baskılaması açısından F2-9 önemli bir bileşiktir. FTY720 ve F1-12 bileşiği biraz daha yüksek dozlarda uygulandığında daha anlamlı bir etkiye sahip olabilir. Akut MS lezyonlarında ekspres olan CCL2 ve CCL3 her üç bileşiğin uygulama sonrasında da baskılanmıştır. MS hastalarında CXCL10 ve CXCL11 serum konsantrasyonun artışı gösterilmiştir (Szczeniński ve Losy 2011; Szczeniński ve diğ. 2007). CXCL10 her üç bileşiğin uygulaması sonucunda baskılanmıştır. CXCL11, lenfokinler tarafından salgılanan sitokinlerin cevabında rol oynarken CXCL9, monokinler tarafından salgılanan sitokinlerin cevabında rol oynar. CXCL9 ekspresyonu F2-9 tarafından baskılanırken CXL11 ekspresyonu F1-12h tarafından baskılanmaktadır. MS daha çok lenfosit kaynaklı bir inflamatuvar hastalık olduğu için F1-12h tarafından baskılanan CXCL11 ekspresyonu daha çok önem arz etmektedir.

Sitokin üretimine sebep olan FOXP3, T hücrelerinin aktivasyonuna neden olur (Allan ve diğ. 2006). Düzenleyici T hücrelerinin fonksiyonu ve gelişmesinde görevli yolağın ana düzenleyicisi olarak rol oynar (Hori ve diğ. 2003; Fontenot ve diğ. 2003; Fontenot ve diğ. 2005). Otoimmün hastalıklarda düzenleyici T hücreleri

aktivitesinin eksikliği diğer otoimmün hücrelerinin vücudun kendi dokularına saldırmasını izin verir (Josefowicz ve diğ. 2012; Zhang ve Zhao 2007). MS hastalarında seviyesi artan FOXP3'ün (Rodi ve diğ. 2016), FTY720'nin baskılaması T hücre aktivasyonunun baskılanmasını sağlar. Ancak F1-12h ve F2-9, FOXP3 üzerinden etki etmemektedir.

Serebrospinal sıvı (CSF) beyin ve omurilikte bulunan bir vücut sıvısıdır. Beyin ventriküllerin koroid pleksus kısmından üretilmektedir. Kafatasının içinde beyine mekanik ve immülojik koruma sağlayan beyin korteksi için tampon görevi görür. Ayrıca CSF sitokin ağında kronik inflamasyonda önemli rol oynar. MSS tümörleri, Alzheimer ve MS gibi inflamatuvar hastalıklarda seviyesi artmaktadır (McQualter ve diğ. 2001; Anoop ve diğ. 2010). FTY720 ve F1-12, inflamatuvar hastalıklar için önemli markerlardan biri olan CSF miktarını azaltmaktadır. F2-9 üzerinde önemli bir etkisi yoktur. MS hastalarında kandan alınan örnek ile teşhis edilmektedir. Doğrudan sinir hücrelerinde ekspresyon düzeyinin bakılması doğru sonuçlar vermeyebilir.

JAK/STAT sinyal yolu sitokinlerin biyolojik aktivitelere aracılık eder ve bağışıklık tepkimelerinin geliştirilmesi ve düzenlenmesi için önemlidir (O'Shea ve Plenge 2012). JAK/STAT yolunun düzenlenmesi MS'de dâhil olmak üzere pek çok otoimmün hastalıklara katkıda bulunur (Benveniste ve diğ. 2014). Altmıştan fazla sitokin ve büyüme faktörü bu yolağı kullanmaktadır. STAT3, MS duyarlılık geni olarak teşhis edilmiştir (Baranzini ve diğ. 2009; Jakkula ve diğ. 2010) ve bağımsız başka bir çalışmada (Lill ve diğ. 2012) STAT3, MS riskinde bir artış ilişkisi bildirilmiştir. FTY720 ve FTY720 kadar etkili olan F1-12h, JAK/STAT yolağını kullanarak sitokin üretimini ve sitokin salınımını engelleyebilir.

MS dizini ile farklılık arz eden bir diğer gen de kalıtsal bağışıklıkta yer alan C1S geni oldu (Gal ve diğ. 2002). Bu bileşen kalıtsal bağışıklık için önemlidir ve DAE modelinde oldukça artış göstermiştir. Son dönem yapılan çalışmalar kompleman sistemin sistemik aktivasyonunun MS'in patogeneğinde önemli olduğunu gösteren kanıtlar sunmaktadır (Ingram ve diğ. 2009). Hatta bazı çalışmalar artan serum düzeylerinin biyomarkör (belirteç) olarak kullanılabilirliğini ileri sürmektedir (Ingram ve diğ. 2012). F1-12h bileşiği kompleman sistemi engelleyerek

inflamasyonun baskılanmasına katkı sağlar. FTY720 ve F2-9'un kompleman sistem üzerinde etkisi yoktur.

Doku uyumsuzluk 2, Sınıf II Antijen E Beta (H2-EB1) geni, HLA-DRB1, HLA sınıf II beta zinciri paraloglarının dâhilidir. Sınıf II molekülü, bir alfa (DRA) ve bir beta zincirinden (DRB) oluşan bir heterodimerdir ve her iki alt birimde membran bağlıdır. Hücre dışı patojenlerden türetilen peptitlerin sunulmasında yer alması nedeni ile bağışıklık sisteminde merkezi bir rol oynar. HLA-DRB1'in hem astrosit hem de endotel hücrelerde non-spesifik indüksiyonu sirküle hücrelere antijenin sunulmasını sağlar ve demiyelinizasyona yol açan lokal immün cevabı tetikler. Bu gen MS ile ilişkisi ve risk faktörü olduğu ilk tanımlanan lokustur ve esas sorumlu genidir (Schmid ve diğ. 2007; Handunnetthi ve diğ. 2010). FTY720 ve F1-12h'ın HLA-DRB1 gibi MS'de önemli bir markır gen üzerine anlamlı bir etkisi yokken F2-9 bileşiği HLA-DRB1'i baskılamaktadır. Ancak HLA sınıf II moleküller, antijen sunan hücrelerde (B lenfositleri, dendritik hücreler, makrofajlar), astrositlerde ve endotel hücrelerde ifade edilir. Nöroblastomda yapılan bu çalışmanın ifadesinin daha yüksek olduğu diğer hücrelerde de tekrar edilmesi daha doğru sonuçlar verecektir.

FTY720, F1-12h ve F2-9 bileşiklerinin inflamasyon üzerine etki ettiği genler incelendiğinde TNF α 'nın endotel hücreleri üzerindeki etkisi olan kan-beyin bariyeri geçirgenliğini azaltarak inflamatuvar hücrelerin kan beyin bariyerlerinden sızmasını azalttığı, MSS'de infiltrasyonu baskılayarak anti-inflamatuvar etki gösterdiğini ve humoral immün yanıtın baskılanmasında etkili olduğunu söyleyebiliriz. FTY720 ve F1-12h bileşikleri JAK/STAT yolağını kullanarak sitokin üretimini ve sitokin salınımını engelleyebilir, proinflamatuvar sitokinleri baskılayarak T ve B hücrelerin antijene bağlı aktivasyonunun engellenmesinde, proinflamatuvar-antiinflamatuvar dengenin sağlanmasında temel rol oynar. F1-12h ayrıca hücrel immün yanıtın baskılanmasında, monokinlerin tarafından salgılanan sitokinlerin baskılanmasında, kompleman sistemi engelleyerek inflamasyonun baskılanmasına katkı sağlar. F2-9, TGFB1 üzerindeki etkisinden dolayı MS oluşumunda çok önemli Th17 hücrelerinden IL17 salınımını engelleyebilir. F1-12h'un MS'de oluşan inflamasyonun baskılanmasında şuan hâlihazırda kullanılan FTY720'den daha iyi bir ajan olduğu gösterilmiştir.

MS dizin çalışmalarımızda farklılık tespit ettiğimiz üçüncü grup genler hücre adezyon molekülleri ile ilişkili olanlardır. MS lezyonlarının histopatolojisine bakıldığında, beyin ve spinal kord'da beyaz maddenin T ve B lenfositlerince bölgesel infiltrasyonundan kaynaklandığı yapılan çalışmalarda gösterilmektedir (Hauser ve diğ. 1986). Elde edilen verilerden yola çıkılarak MS tedavisi için MSS içine hücre göçünde rol oynayan faktörler çalışılmaktadır. Yapılan çalışmalarda lökositlerin doku içine geçişinin, farklı şekillerde gerçekleştiğini göstermektedir. Bu adımlarda rol oynayan faktörler, selektinler ve ligandları, kemokinler ve kemokin reseptörleri, integrinler, hücre adezyon molekülleri ve matriks metalloproteinazlar (MMP) sayılabilir (Pedemonte ve diğ. 2005).

Lökosit ve endotel hücresi arasındaki ilk temas bağlanma aşamasıdır. Burada daha önceki çalışmalardan da belirlenen hücrenin endotel üzerinde bağlanmasını sağlayan VCAM1 ekspresyonu MS hastalarında artmaktadır (Peterson ve diğ. 2002; Calabresi ve diğ. 1997). Bağlanma aşamasından sonra hücre endotel üzerinde hareket eder. Bu aşamada ephrin (EPHA) stimüle olur ve migrasyonun gerçekleşmesini sağlar (Hjorthaug ve Aasheim 2007). Ephrin reseptörleri integrinler ile etkileşime girerler. İntegrinler, lökosit adezyonundan ve lökositlerin, endotel veya diğer hücrelere bağlanmasından sorumludurlar. İmmüoglobulin süper ailesinden ICAM molekülleri ile birleşebilme özelliğinde olan β -2 integrinler (ITGB2); lökositlerin inflamasyon alanına göçünde, NK (Doğal öldürücüler) ve sitotoksik T lenfositlerin hedef hücreleri öldürmesinde görev alırlar. İntegrinlerle, hücre adezyon moleküllerinin etkileşimleri sonucunda, lökositler endotele sıkıca yapışır ve ardından endoteli geçerek migrasyonlarını gerçekleştirirler (Timothy 1994). Her üç bileşik özellikle F1-12, VCAM1, ICAM1 ve EPHA1 ekspresyonunu baskılayarak lökosit ve endotel hücre arasındaki temasın engellenmesine katkı sağlarlar. FTY720 ayrıca ITGB2'nin, baskılanmasını sağlayarak ICAM ile birleşip lökositlerin inflamasyon alanına hareketini engeller. F1-12h ve F2-9 bileşikleri ITGB2'ye etki etmemektedir. FTY720 uygulaması sonrasında ITGB2'nin baskılanması iki şekilde değerlendirilebilir. ITGB2 lökositlerin inflamasyon alanına göçünü ve MS lezyonlarının oluşumunu engeller ancak lenfosit trafiğini devre dışı bırakıldığından diğer fırsatçı enfeksiyonlar ile başa çıkmak için bağışıklık sistemi yeteneğini azaltabilir.

Hücre migrasyonuna ekstraselüler matriks (ECM) proteinleri de yardımcı olmaktadır. MMP9, matriks metalloproteinaz ailesinin bir proteini olarak hem embriyonik gelişme, üreme ve dokunun yeniden şekillenmesi gibi normal fizyolojik süreçlerin, hem de artrit ve metastaz gibi hastalık süreçlerinde hücre dışı makriks yıkımına katılırlar. Birçok MMP hücre dışı proteinazlar tarafından kesildikleri zaman aktif hale gelen inaktif proproteinler olarak salgılanırlar. Bu gen tarafından kodlanan enzim izoformu, tip IV ve tip V kollajenleri parçalar. MMP2/9'un MS patogenizinde potansiyel olarak kan beyin bariyeri geçirgenliğini artırdığı önerilmektedir (Tasaki ve diğ. 2014). Her üç bileşikte MMP9 ekspresyonunu baskılamaktadır. F1-12h bileşiğinin MMP9'u baskılaması yukarıda da bahsedilen IL13'ün baskılanmasından kaynaklı olabilir. Hücre-hücre interaksyonu ve hücre migrasyonunda görev alan CD44, MMP9 gibi diğer ligandlarla etkileşime girebilir. CD44 veya MMP-9 inhibisyonu hücre göçünü inhibe eder. MS hastalarının beyin lezyonlarında ekspresyonu artan CD44 (Ghazi-Visser ve diğ. 2013), FTY720 uygulaması sonucunda baskılanarak hücre göçünün engellenmesini sağlamaktadır. Aslında CD44'ün immünitede iki mekanizması tartışılmalıdır. Birinci mekanizmada, otoimmün hastalıklar oluştuğunda, bunların oluşturduğu etkiler CD44 üretimini arttırmakta, böylece CD44 otoimmünitede lezyonları oluşturucu olarak karşımıza çıkmaktadır. İkinci mekanizmada ise, CD44 eksikliği makrofajların apoptotik hücreleri fagosite etme yeteneğini bozmakta, böylece CD44 eksikliği otoimmünitenin etiolojisinde rol oynayan bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. FTY720'nin CD44 üzerine katkısı, etki/yan etki açısından tartışmaya açıktır.

Bunların dışında ekstraselüller matriks proteinleri kenetleme ya da büyüme faktörleri, immün ve glial hücreler ile etkileşime girerek bağışıklık reaksiyonlarını değiştirebilir. Bunlardan biride COL1A1 tip I kollajeni kodlar. MS hastalarında aktif lezyonlarda immün hücrelerin geçişi sırasında fibriler kollajenlerin seviyeleri artmaktadır (Mohan ve diğ. 2010). FTY720 ve F1-12h uygulaması sonucu MS'de demiyelinizan lezyonlarda artan fibriler kollajen seviyelerinin baskılayarak fibrozis oluşumunu engelleyebilirler. F2-9'un anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır.

Bir hücre yüzey reseptörü olarak çalışılan APP nöronların yüzeyinde nöronal adezyon, aksonogenez ve nörit büyüme ile ilgili fizyolojik işlevleri yerine getirmektedir (Aydın ve diğ. 2012). Protein-protein etkileşimleri ile hücre hareketliliği ve transkripsiyon düzenlenmesinde de rol alır, notch sinyal yolağını

inhibe eder (Multhaup ve diğ. 2015). APP Alzheimer başta olmak üzere birçok nörodejeneratif hastalıkla ilişkisi bildirilmiştir. FTY720 uygulaması sonucunda APP baskılanarak nöronal adezyonu engelleyebilir. Diğer iki sentetik bileşiğin APP üzerine anlamlı bir etkisi yoktur.

MS multifokal inflamatuvar lökositlerin infiltrasyonu ve demiyelinizasyon ile karakterize bir hastalıktır. İnflamatuvar dokulardaki ilk değişikliklerden biride vasküler endotel hücrelerin aktivasyonudur. Normal şartlarda vasküler endotel hücreler lökositler için düşük geçirgen özelliğe sahiptir ancak sitokinler stimüle oldukları zaman lökositlerin yapışması ve inflamatuvar dokuya migrasyonu kolaylaşır. Özellikle insan endotel hücrelerinde tanımlanmış olan VCAM, ICAM ve selektinlerin MS hastalığında hücre migrasyonu ve genelde inflamatuvar süreçte özellikle de otoimmün demiyelinizasyon mekanizmasında önemli olduğu düşünülmektedir. Yapılan MS çalışmalarda serumda veya beyin omurilik sıvısında ICAM-1, VCAM-1 ve MMP9 seviyelerinin arttığı bildirilmiştir (Dore-Duffy ve diğ. 1995; Hartung ve diğ. 1995). Her üç bileşikte VCAM1, ICAM1, EPHA1 ve MMP9 ekspresyonunu baskılayarak lökosit ve endotel hücre arasındaki temasın engellenmesine, KBB geçirgenliğinin azaltılmasına ve migrasyonun engellenmesine katkı sağlar. Ayrıca FTY720 ve F1-12h uygulaması sonucu MS'de demiyelinizan lezyonlarda artan fibriler kollajen seviyelerini baskılayarak fibrozis oluşumunu engelleyebilirler. FTY720 hücre göçüne engel olurken bir taraftan da makrofajların apoptotik hücreleri fagosite etme yeteneğini bozmakta ve diğer fırsatçı enfeksiyonlar ile başa çıkma yeteneğini azaltmaktadır. Her üç bileşik karşılaştırıldığında F1-12h bileşiği hücre migrasyonunun engellenmesinde yan etkileri olan FTY720'den ve daha az etkin olan F2-9'dan daha çok katkı sağlar.

MS dizin çalışmalarımızda farklılık tespit ettiğimiz dördüncü grup genler apoptoz ile ilişkili olanlardır. Apoptotik gen ifadesi ve klinik hastalık aktivitesinde değişiklikler arasında kesin bir ilişki değerlendirilmemiştir. Ancak NİMS hastaların periferik kan tek çekirdekli hücrelerinde antiapoptotik genlerin ifade düzeylerinin önemli düzeyde arttığı bildirilmiştir (Achiron ve diğ. 2007).

TNF α , TNF süper ailesine ait çok işlevli bir proinflamatuvar sitokindir. İki farklı hücre yüzeyi reseptörü, TNFRSF1 ve TNFRSF2 aracılığıyla sinyal verir. NF κ B, TNF α gibi sitokinler de dâhil olmak üzere çeşitli hücre uyarıları tarafından

aktive edilen bir transkripsiyon düzenleyicidir. TNF ile aktivasyonu sonucunda programlanmış hücre ölüm sinyalizasyonu, hücre çoğalması, farklılaşma, apoptoz, lipid metabolizması ve koagülasyon gibi geniş bir biyolojik süreç yelpazesinin düzenlenmesinde yer alır (Gilmore 2006). TNF α stimülasyonunun yokluğunda NF κ B, sitoplazmada inhibitör I κ B ile ilişkilidir. NF κ B ve PI3K'nın aktivasyonu apoptozu engeller. IKK aktive olduğunda ve I κ B'yi fosforilize edip ayrışım için onu hedef haline getirdiğinde NF κ B aktivasyonu görülür. Daha sonra I κ B'nin ayrışımını takiben NF κ B, çekirdeğe doğru yer değiştirir ve kaspaz-8 aktivasyonunu inhibe eder, sitokrom c salınımını önler. Bcl2 gibi antiapoptotik genleri kapsayan multipl genlerin transkripsiyonunu indükler. Hücre yüzeyi reseptörleri (sıklıkla VEGFA, FGF gibi büyüme faktörü reseptörleri) yoğunlaşır ve PI3K'nın ligandlarına bağlanmasını aktive eder. Bir kez aktive olan PI3K, Akt/PKB'yi fosforilize eder. Akt/PKB, ayrıca NF κ B yanıtının aktivasyonu ile sonuçlanan IKK'yı da aktive eder. FTY720 ve F1-12h bileşiği, (TNF, TNFRSF1A, NF κ B, PI3K, AKT, VEGFA, FGF) TNF, TNFRSF1A/FasL sisteminin aktivasyonunun baskılanmasıyla hücreleri apoptoza teşvik eder, immün sistemin düzenlenmesi ve sitotoksik T hücrelerinin hücre ölümünün aktivasyonunun baskılanmasında önemli rol oynar. F2-9'un bu yolak üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır.

Apoptozu düzenleyen CFLAR hücre yaşamı ve hücre ölüm arasında kritik fonksiyona sahiptir. TNFRSF6 aracılı apoptozis inhibitörü olarak rol oynar. MS'de, T hücrelerinde CFLAR seviyelerinin patolojik artması, klinik olarak aktif MS hastalarında T hücrelerinin ve lenfositlerin birikimine neden olur (Gomes ve diğ. 2003). CFLAR seviyesinin artması potansiyel olarak patojenik otoreaktif T hücrelerinin canlılığını uzatabilir. FTY720 ve F1-12h bileşiği, CFLAR seviyesinin azalmasını sağlayarak inflamasyonun baskılanmasına ve apoptoza katkı sağlar.

MYC geni hücre çoğalmasının düzenlenmesinde etkili nükleer bir proteini kodlar. İmmünoglobulin genleri tarafından kontrol altında tutulur ve 3 ekzondan oluşur. MYC geni düzenlenme esnasında genellikle birinci ekzon kaybolur, bu ekzon protein üretiminden sorumlu olmadığı için fonksiyonunda bir değişiklik olmaz. Ancak kontrolsüz hücre çoğalmasına neden olur. MYC'nin yeniden düzenlenmesi sonrasında ortaya çıkan aşırı ekspresyon T hücre farklılaşmasının inhibisyonuna ve kontrolsüz hücre çoğalmasına neden olur. FTY720 ve F1-12h MYC genini baskılaması ile kontrolsüz hücre çoğalması engellenebilir.

Histon asetilasyon ve deasetilasyonu ökaryotik gen ekspresyonunda önemli rol oynar. Retinoblastoma tümör süpresör protein ile etkileşime girerek hücre proliferasyonu ve farklılaşmasının kontrolüne katkı sağlamaktadır. Metastaz ilişkili protein 2 ile beraber p53'ü deasetile ederek hücre büyümesi ve apoptozisi modüle eder. Son zamanlarda birçok hastalığın tedavisinde HDAC inhibitörleri kullanılmaktadır. MS tedavisinde de HDAC inhibitörleri kullanılmaktadır (Faraco ve diğ. 2011; Hait ve diğ. 2014). FTY720'de bir HDAC inhibitörüdür ve sitotoksik T hücrelerinin hücre ölümünün aktivasyonunun baskılanmasında ve çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanılabilir. Elde edilen sonuçlara göre FTY720 ve FTY720'den daha etkili olan F1-12h apoptozise önemli katkı sağlarken, F2-9'un katkısı bulunmamaktadır.

GPCR dizin çalışmalarımızda farklılık tespit ettiğimiz ilk grup genlerimiz sfingozin fosfat reseptörleri ile ilişkili genlerde ortaya çıktı. FTY720 doğal sfingozinin bir yapısal analogudur. S1P inflamasyon ve onarımda önemli rol oynayan doğal bir bioaktif sfingolipiddir. Bağışıklık sisteminde S1P sinyali lenfositlerin lenf nodlarından dışarı çıkışını düzenler. S1P bazı lenfositlerin yüzeyinde bulunan S1P1 reseptörlerine bağlanarak onları aktive eder ve lenf nodlarından kan dolaşımına çıkışlarını düzenleyerek inflamasyon bölgesine ulaşmalarını sağlar. Oral FTY720 lenfositler ve nöral hücreler üzerindeki S1P reseptör modülasyonunu gerçekleştirir. FTY720 lenfositler üzerindeki beş S1P reseptöründen dördünü işlevsel olarak baskılayarak, lenfositlerin lenf dokusu ve kan arasındaki S1P gradyanı boyunca hareket etmelerini imkânsız kılar ve lenf nodlarından lenfositlerin çıkışını önler (internalizasyon) (Cohen ve Chun 2011). Her üç bileşikte S1P reseptörlerini baskılayarak T ve B lenfositlerin MSS gibi inflamasyon bölgelerine ulaşmasını önleyerek etki göstermektedir. Bileşikler teorik çalışmalar (docking) ile belirlenirken S1P reseptörlerine en yüksek ilgi duyması beklenen moleküler sentez için seçilmiştir ancak biyolojik etkinlik çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre sentezlenen bileşikler S1PR1 üzerinde şu an mevcut olan FTY720'den daha düşük etkinliğe sahiptir. Bu da şunu gösteriyor ki teorik çalışmalarla elde edilen bileşikler her zaman doğru sonuçlar vermeyebilir. Bu yüzden muhakkak *in vitro* ve *in vivo* çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Adenozin vücutta yaygın olarak bulunan bir nöromodulatördür. Hücre içinde ve dışında devamlı sentezlenmektedir. Adenozin, etkilerini özgül reseptörleri

aracılığı ile oluşturur. Adenilat siklazı, G-proteine kenetli bu reseptörlerden A1 ve A3 inhibe ederken, A2 aktive eder. A2 reseptörlerinin A2A ve A2B olmak üzere iki alt tipi tanımlanmıştır. A2 reseptörleri Gs proteinleri aracılığıyla adenilat siklazı aktive eder, Ca kanallarını inhibe eder. Adenozin A2A ve dopamin D2 reseptörleri (DRD2) nöronlarda birlikte bulunurlar. D2 reseptörleri Gi proteini aracılığı ile adenilat siklazı baskımlarken, A2A reseptörleri bu enzimi Gs proteini aracılığı ile aktive etmektedir. Adenilat siklaz aktivasyonu sonucu artan cAMP, bu nöronlarda GABA salınımına neden olur. Dopamin birikimi hücre ölümüne yol açabilir. MS hastalarında dopamin DRD1, 3 ve 5 yolu ile TNF üretimi, DRD1, 2, 5 yolu ile de IL10 üretimini artırır (Rangel-Barajas ve diğ. 2015; Deckx ve diğ. 2013). Her üç bileşikte cAMP salınımını adenozin ve dopamin reseptörleri üzerinden artırmaktadır.

Gen ekspresyonu çalışmaları dışında ekspresyon çalışmalarında destekleyecek şekilde hücre içi cAMP miktarının ve aktivitesinin artığı yapılan deneyler ile gösterilmiştir. cAMP yanıt eleman protein (CRE) bir nükleer transkripsiyon faktörü olup 200'ü aşkın etken (AKT/B, pp90orsk, protein kinaz A, kalsiyum/kalmodulin bağımlı kinaz, peptid hormonlar, nörotransmitterler vb.) tarafından fosforile olur (Sakamoto ve Frank 2009). CRE proteini çeşitli yollarla fosforile olduktan sonra, CRE bağlayıcı protein veya homologu olan p300 adı verilen kofaktörlerin etkisi ile cAMP yanıt elemana bağlanarak transkripsiyona hazır hale gelmektedir. Bu iki kofaktörün ekspresyonunun da CRE ekspresyonunu yansıttığı düşünülmektedir. CRE proteini, siklin A1, siklin D1, Bcl-2 ailesi, EGR1 gibi sayısı 500'ü aşkın geni uyararak proliferasyon, yenilenme ve invazyon gibi önemli fonksiyonlara yol açmaktadır. CRE, cAMP'nin genetik transkripsiyonunu artıran bir proteindir. CRE döngüsü beta-adrenerjik reseptörler ile düzenlenmektedir (Yamada ve diğ. 2003). cAMP yolağı, ATP'den adenilat siklaz enzimi aracılığıyla cAMP oluşumunu katalizler. cAMP'nin hücre içi etkileri cAMP bağımlı protein kinaz (protein kinaz A) ile gerçekleştirilir. cAMP protein kinaz A'ya bağlandığında katalitik alt birimler birbirinden ayrılır ve her biri hedef proteinlerdeki serin kalıntılarını fosforiller veya hücre çekirdeğine göç eder. Katalitik alt birim çekirdekte CREB (cAMP yanıt elemanı bağlama proteini) adlı CRE'ye bağılı transkripsiyon faktörünü fosforiller ve gen ekspresyonunu düzenler (Kierszenbaum 2007). CREB fosforilasyonu cAMP-PKA yolu dışında Ras-MAPK ve Ca/kalmodulin bağılı protein kinaz yolu ile de aktive olmaktadır. FTY720, F1-12h ve F2-9, CRE'yi fosforilleyerek

cAMP miktarını artırır. FTY720, F1-12h ve F2-9'dan daha yüksek aktiviteye sahiptir. Yukarıda da bahsedildiği gibi teorik çalışmalarda daha etkin olması daha *in vivo* ve *in vitro*'da daha etkili olduğunu göstermemektedir.

Glutamat normal beyin fonksiyonu için gerekli olmasına karşın, glutamatın aşırı miktarının varlığı eksitotoksik hücre ölümüne yol açabilir. Glutamatın yıkıcı etkilerine glutamat reseptörleri, özellikle de N-metil-D-aspartat (NMDA) tip olanlar, aracılık eder. Diğer glutamat-geçiren iyon kanallarının aksine (primer olarak Na^+ alımını düzenleyenler), aktive NMDA reseptör-kanalları hücre içine Ca^{+2} akışını sağlar ve bu da aşırı olduğu zaman birçok potansiyel yıkıcı süreci aktifleyebilir. Glutamat eksitotoksitesisi MS patogenezinde önemli rol oynar. Aktif MS lezyonlarında glutamat reseptörleri yoğun bir şekilde ekspres edilir (Newcombe ve diğ. 2008). Glutamat, glutamat reseptörlerini uyardığı gibi NO (nitrik oksit) sentezini de artırır. NO üretiminin artırılması Ca^{+2} 'a bağımlı bir işlemdir. Dopamin ve noradrenalin gibi bazı nörotransmitterlerin geri alımını da engeller (ör; noradrenalin geri alım taşıyıcısını inhibe eder), ACh salgılayabilir. Sinir iletisi üzerine olan spesifik etkiler nöronal nitrik asit sentetaz (nNOS) tarafından üretilen NO'ya bağlıdır. MSS'de NO sentezi NMDA reseptörlerinin glutamat ile aktivasyonu sonucu gerçekleşir. Böylece hücrelere zarar verebilir (Encinas ve diğ. 2008). Ayrıca cMYC'nin artması da glutamat eksitotoksitesisine neden olabilir. (Liu ve Zhu 1999). Sonuçlara göre FTY720 ve F1-12h bileşikleri incelendiğinde nöron koruyucu etkisi olduğu görülmüştür ayrıca glutamat reseptörlerine etki ederek glutamat eksitotoksitesisini engellediğini söyleyebiliriz. F2-9'un glutamat eksitotoksitesisinin neden olduğu hasarı engellemek üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamaktadır.

Glutamat reseptörleri dışında FTY720 ve F1-12h opioid reseptörleri de etkilemektedir. Akut ya da kronik uygulamada opioidlerin humoral ve hücrel bağışıklık tepkileri üzerinde antikor üretimi, doğal katil-lenfosit etkinliği, sitokin ifade ve fagositik aktivite önleyici etkilere sahip olduğu bilinmektedir. 4 çeşit opioid reseptörü vardır. Delta, mu, kappa reseptörler ve opioid reseptör 1. Yapılan çalışmalarda MS hastalarında delta, mu, kappa reseptörlerin ekspresyon düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (Lynch ve diğ. 2008). FTY720 ve F1-12h humoral ve/veya hücrel bağışıklık üzerine etkilerini opioid reseptörleri üzerinden göstermektedir. F2-9'un opioid reseptörlerine etkisi yoktur.

MS tedavisinde çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır ancak birçoğunun çok fazla yan etkisi bulunmaktadır. Bunlardan biride MS tedavisinde kullanılan alemtuzumabtır. Bu ilacın yan etkilerinden biride kullanımdan sonra tiroid hastalığına neden olmaktadır. Alemtuzumab kullanan hastaların TSH'larında artış görülmüştür (Aranha 2013). FTY720 kullanımından sonra FTY720 uygulaması sonucunda TSHR'deki düşüş hipertiroidizm ile ilişkilidir. Ancak diğer sentezlenen bileşiklerimizin TSH üzerinde yan etkisi bulunmamaktadır.

Kortikosteroid sentezinde görevli "corticotropin releasing hormon" (CRH) immün sistemin stresle mücadelesinde önemli yeri olan nöroendokrin bir araçtır, strese inflamasyonda ekspresyon düzeyi artar. CRH'nin hipofizde bağlandığı reseptörlerden biri de CRH reseptör 1 (CRHR1)'dir. MS hastalığında CRH reseptörlerinin de (CRHR1 ve CRHR2) inflamasyona bağlı olarak ekspresyon düzeyleri artmaktadır (Benou ve diğ. 2005; Papadopoulou ve diğ. 2005). FTY720 uygulaması sonucu CRHR reseptörlerinde değişiklik olmazken, F1-12h uygulaması sonucu CRHR1 reseptöründeki artış hiperkortizolizm ve depresyon gibi yan etkilere sebep olabilir.

Anjiyotensinler kan basıncı ve sıvı dengesini düzenleyen bir sistemdir. Kan basıncı düştüğü zaman hücreye ulaşan sodyum klorür seviyesi düşer ve hücreler renin salgılar. Renin anjiyotensin 1'i anjiyotensin 2'ye çevirerek kan basıncının artmasını sağlar. Plazma membran reseptörleri protein yapısındadır. G proteinle eşlenen reseptörler arasında büyük bir grubu oluşturur. Yapılan çalışmada anjiyotensin ve reseptörlerinin nöroprotektif özelliği olduğu gösterilmiştir. Anjiyotensin seviyesi MS hastalarında azalmaktadır (Kawajiri ve diğ. 2008). FTY720 ve F1-12h uygulaması sonucu AGTR2 seviyesindeki değişimler antivazodülatif etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir. F2-9 anjiyotensin reseptörlerine etki etmemektedir.

Genel olarak baktığımızda sentezlenen ve yapısı aydınlatılan bileşiklerin hücre kültüründe seçilen genler üzerine etkilerini daha iyi analiz etmek yukarıdaki bilgileri desteklemek amacıyla her bileşiğin etkilediği genlerin yolağı çıkartılarak Şekil 60-62'de verilmektedir.

Şekiller incelendiğinde FTY720, F1-12h ve F2-9 bileşikleri, TNF α 'nın endotel hücreleri üzerindeki etkisi olan kan-beyin bariyeri geçirgenliğini azaltarak inflamatuvar hücrelerin kan beyin bariyerlerinden sızmasını azalttığı, MSS'de infiltrasyonu baskılayarak anti-inflamatuvar etki gösterdiğini ve humoral immün

yanıtın baskılanmasında etkili olduğunu söyleyebiliriz. FTY720 ve F1-12h bileşikleri JAK/STAT yolağını kullanarak sitokin üretimini ve sitokin salınımını engelleyebilir, proinflamatuvar sitokinleri baskılayarak T ve B hücrelerin antijene bağlı aktivasyonunun engellenmesinde, proinflamatuvar-antiinflamatuvar dengenin sağlanmasında temel rol oynar. F1-12h ayrıca hücresele immün yanıtın baskılanmasında, monokinler tarafından salgılanan sitokinlerin baskılanmasında, kompleman sistemi engelleyerek inflamasyonun baskılanmasına katkı sağlar. Humoral ve/veya hücresele bağışıklık üzerine etkilerini opioid reseptörleri üzerinden göstermektedir. F1-12h'un MS'de oluşan inflamasyonun baskılanmasında FTY720 ve F2-9'dan daha etkili bir bileşiktir.

FTY720, F1-12h ve F2-9, lökosit ve endotel hücre arasındaki temasın engellenmesine, KBB geçirgenliğinin azaltılmasına ve migrasyonun engellenmesine katkı sağlar. Ayrıca FTY720 ve F1-12h uygulaması sonucu MS'de demiyelinizan lezyonlarda artan fibriler kollajen seviyelerini baskılayarak fibrozis oluşumunu engelleyebilirler. FTY720 hücre göçüne engel olurken bir taraftan da makrofajların apoptotik hücreleri fagosite etme yeteneğini bozmakta ve diğer fırsatçı enfeksiyonlar ile başa çıkma yeteneğini azaltmaktadır. Her üç bileşik karşılaştırıldığında F1-12h bileşiği hücre migrasyonunun engellenmesinde yan etkileri olan FTY720'den daha fazla etkilidir.

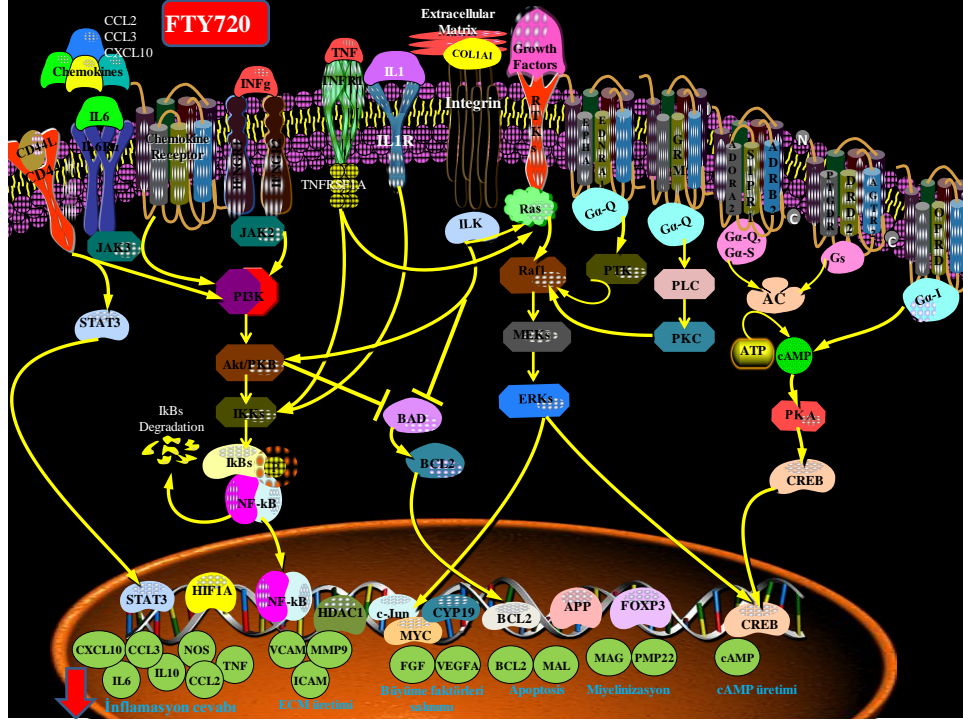
FTY720, F1-12h ve F2-9 MS'de tanımlanan demiyelinizasyon mekanizmalarına karşı ana miyelin proteinlerin ekspresyonlarını artırarak remiyelinizasyonun desteklenmesine katkı sağlamaktadır. Ayrıca FTY720 ve F1-12h proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmalarını engelleyerek ve FTY720 ve F2-9 bileşğinde oligodendrosit hasarı oluşumunda reaktif oksijen türevlerine karşı koruyarak da remiyelinizasyonu destekler. Ekspresyon düzeyleri incelendiğinde her üç bileşik içinde miyelin rejenerasyonunu tetikler ancak F2-9, diğer iki bileşiğe göre remiyelinizasyon mekanizmasında daha etkilidir. Ancak nöroksonal yaralanmalar gerçekleştiikten sonra bu bileşikler miyelin gen ekspresyonlarını artırsa bile etkili olmayabilir, bu yüzden hastalığın erken dönemlerinde bu bileşikler faydalı olabilir. Daha kesin sonuçlar elde etmek için çalışmanın glial hücreler üzerinde de gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

FTY720 ve FTY720'den daha etkili olan F1-12h Fas sinyal yolunu baskılayarak apoptozise önemli katkı sağlar ve demiyelizan plakların oluşmasını engeller. Glutamat reseptörlerine etki ederek glutamat eksitotoksitesini engeller.

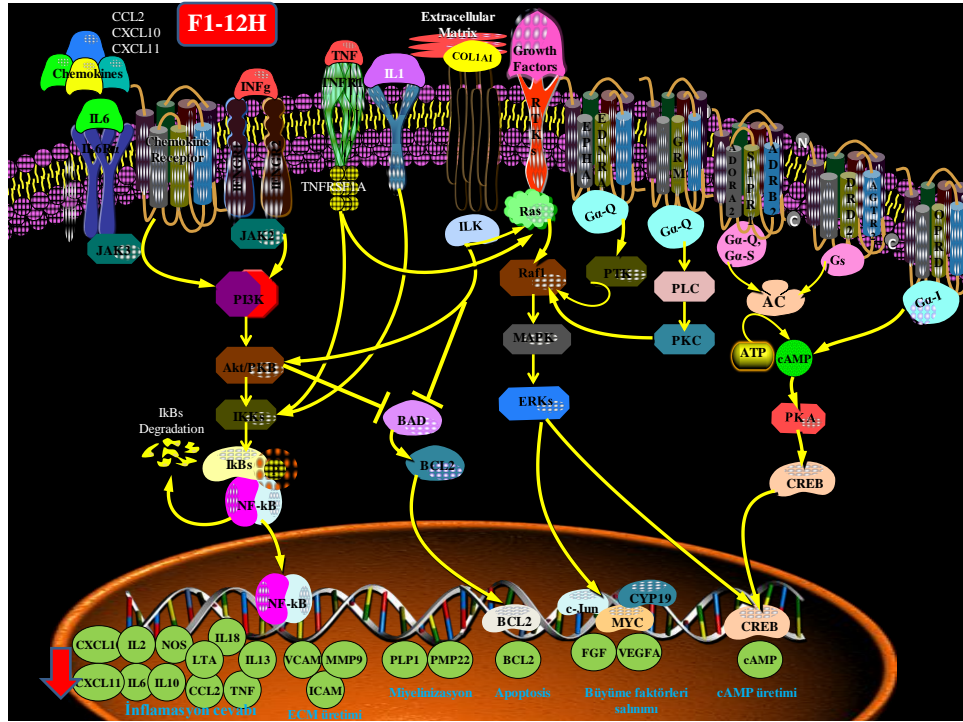
Her üç bileşikte S1P reseptörlerini baskılayarak T ve B lenfositlerin MSS gibi inflamasyon bölgelerine ulaşmasını önleyerek ve cAMP salınımını adenozin ve dopamin reseptörleri üzerinden artırarak etki göstermektedir. Ayrıca CRE'yi fosforilleyerek cAMP miktarını artırır. FTY720, diğer iki bileşikten de daha yüksek aktiviteye sahiptir.

FTY720, hipertiroidizm, makrofajların apoptotik hücreleri fagosite etme yeteneğini bozma ve diğer fırsatçı enfeksiyonlar ile başa çıkamama gibi yan etkileri bulunurken, F1-12h hiperkortizolizme ve depresyona neden olabilir. FTY720 ve F1-12h antivazodülatif etkiye sahiptir.

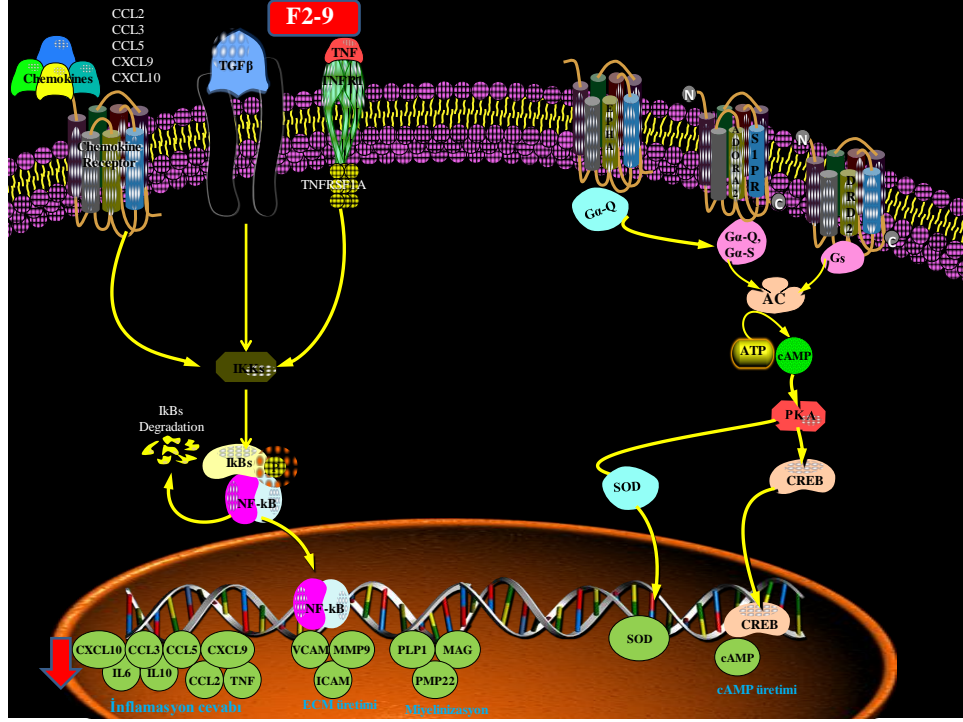
Her üç bileşikte MS hastalığı için uygun bileşiklerdir zaten hâlihazırda FTY720 MS hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır. F1-12h bileşiği FTY720'ye alternatif olabilir ancak daha etkili olduğunu söylememiz için hayvan deneyleri yapılmalıdır ve toksisitesi çalışılmalıdır.



Şekil 60. FTY720 uygulaması sonucunda ekspresyonları değişen genlerle ilişkili yolak



Şekil 61. F1-12h uygulaması sonucunda ekspresyonları değişen genlerle ilişkili yolak



Şekil 62. F2-9 uygulaması sonucunda ekspresyonları değişen genlerle ilişkili yolak

FTY720'un EC05 dozunda 19 gen, EC10 dozunda 52 gen, F1-12h'm EC05 dozunda 18 gen, EC10 dozunda 48 gen, F2-9'un EC05 dozunda 4, EC10 dozunda 27 genin ifade düzeyi kontrole göre anlamlı farklılıklar gösterdi. Bu sonuçlardan yola çıkarak hazırlanan yolaklar incelendiğinde bu bileşiklerin etkisi aşağıdaki şekilde söylenebilir.

- Anti-enflamatuar etki: Her üç bileşikte de oldukça güçlü etki gözlemlendi. Karşılaştırma yapıldığında F1-12h daha etkilidir.
- Miyelin rejenarasyonu: Ancak MSS miyelin rejenarasyonunda F2-9 daha etkilidir.
- T- ve B- hücre aktivasyonunun baskılanması: Her üç bileşikte de immunosupresif etki gözlenmektedir ancak F1-12h bileşiği daha etkilidir.
- Kompleman aktivasyonunun baskılanması: F1-12h
- Apoptotik etki: anti-apoptotik genlerin ketlemesi, İnterferonlar ve integriler üzerinden Bcl-2'yi baskılayarak FTY720 ve F1-12h'in anti apoptotik etkisi vardır, F2-9'un apoptotik etkisi yoktur.
- Bağışıklık düzenleyici: immunomodülatör
- Hücre adezyonu: Her üç bileşikte hücre göçünü engellemektedir ancak F1-12'in katkısı daha fazladır.

- h) cAMP salınımının artırılması: Her üç bileşikte dopamin, adenosin ve adrenerjik reseptörler üzerinde cAMP bağımlı protein kinaz A aktivasyonu aracılığıyla cAMP salınımını artırmaktadır. FTY720 daha etkilidir.
- i) G proteine bağlı reseptör sinyal yollarına etki: FTY720, F1-12h ve F2-9 bileşikleri sfingozin, dopamin, adenosin ve adrenerjik reseptörlere etki etmektedir. Ayrıca FTY720 ve F1-12h glutamat, anjiotensin, opioid reseptörlerine etki etmektedir.
- j) Vazodilatasyonun inhibisyonu: FTY720 ve F1-12h etkisi
- k) Analjezik etki: FTY720 ve F1-12h etkisi

Sonuç olarak FTY720 gibi F1-12h'nin MS için çok önemli bir tedavi ajanı olduğunu söylemek mümkündür. F1-12h bileşiği FTY720 kadar etkindir ancak bunun kesin söyleyebilmek için glial hücrelerle ve hayvan çalışmaları ile desteklenmelidir. Bununla birlikte güvenilirlik açısından (FTY720'nin en önemli dezavantajı) toksikoloji çalışmaları yapılmalıdır.

6. SONUÇ

Sonuç olarak bu tez çalışmasında FTY720 bileşiğinin moleküler modelleme çalışmaları yapıldı. S1P reseptörlerine karşı yüksek ilgi gösteren 2 adet yeni bileşik sentezlenip, MS üzerine etkileri ve ilacın etki mekanizması araştırıldı. Yapılan çalışmalar sonucunda FTY720 ve bu iki yeni alternatif bileşiğin miyelinizasyona ve hücre adezyonuna katkısı, immünomodülatör ve immünsupresif özelliklere sahip olduğu belirlendi. Özellikle F1-12h bileşiğinin immünsupresif ve miyelinizasyonu destekleyici özellikleri merkezi sinir sistemi hastalıklarında etkili olabileceğini düşündürmüştür. Bu üç bileşikte etkisini sfingozin, dopamin, adenozin ve adrenerjik reseptörleri üzerinden cAMP bağımlı protein kinaz A aktivasyonu aracılığıyla cAMP seviyelerini artırarak gerçekleştirmektedir. Ayrıca sadece hücre içi cAMP seviyesi değil protein kinaz tarafından CREB fosforilasyonu aracılığıyla da cAMP seviyesi artmaktadır. FTY720 ve F1-12h, interferonlar ve integrinler üzerinden Bcl2'yi baskılayarak anti apoptotik yolağa etki etmektedir. Glutamat reseptörlerini baskılayarak MS vakalarında görülen glutamat eksitotoksitenini engellemektedir ayrıca Ras yolağına etki ederek büyüme faktörlerinin salınımını sağlamaktadır. Anjiotensin reseptörlerinin ekspresyonlarını artırarak vazodilatasyonu inhibe eder. Opinoit reseptörlerin etki ederek analjezik etki göstermektedirler. Yapılan moleküler ve analitik çalışmalar sonucunda şuan MS tedavisinde kullanılan FTY720'a alternatif olabilecek F1-12h bileşiğinin halen tedavisi bulunmayan MS hastalığı için yüksek potansiyelli ve önemli bir ilaç etmeni olduğunu kuvvetle desteklemektedir. İlaç olma yolundaki bu bileşiğin etki ettiği sinyal yolları incelendiğinde MS için çok önemli terapötik olma özelliği göstermişlerdir. Bu kadar iyi ve pozitif etkiyi bünyesinde barındıran önemli bileşik olduğu muhakkaktır. Ancak hayvan çalışmaları ve toksikoloji çalışmaları yapılmalıdır. Sonuçta FTY720'nin en önemli dezavantajı toksisitesidir. Bu çalışma sonucunda MS hastalığının tedavisinde kullanılabilecek ilaç etkin maddelerin literatüre kazandırılması hedeflenmiştir. Sonraki aşamalarda gerekli testlerin yapılarak, yurt dışından çok yüksek maliyetlerle alınmakta olan MS ilaçlarına bir alternatif olarak ticari bir ürüne dönüştürülmesi ülke ekonomisine katkı sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

Abu El-Asrar, A.M., Struyf, S., Al-Kharashi, S.A., Missotten, L., Van Damme, J., Geboes, K., 'The T-lymphocyte chemoattractant Mig is highly expressed in vernal keratoconjunctivitis', *Am. J. Ophthalmol.*, 136, 853-60, (2003).

Accordini, S., Calciano, L., Bombieri, C., Malerba, G., Belpinati, F., Presti, A.R.L., Baldan, A., Ferrari, M., Perbellini, L., de Marco, R., 'An Interleukin 13 Polymorphism Is Associated with Symptom Severity in Adult Subjects with Ever Asthma', *PLoS One*, 11(3), e0151292, (2016).

Achiron, A., Feldman, A., Mandel, M., Gurevich, M., 'Impaired expression of peripheral blood apoptotic-related gene transcripts in acute multiple sclerosis relaps', *Annals of the New York Academy Sciences*, 1107, 155-167, (2007).

Acuner Ozbabacan, S.E., Gursoy, A., Nussinov, R., Keskin, O., 'The structural pathway of interleukin 1 (IL1) initiated signaling reveals mechanism of oncogenic mutation and SNPs in inflammation and cancer', *PLoS Comput. Biol.*, 10(2):e1003470, (2014).

Adachi, K., Kohara, T., Nakao, N., Arita, M., Chiba, K., Mishina, T., Sasaki, S., Fujita, T., 'Design, synthesis, and structure-activity relationships of 2-substituted-2-amino-1,3-propanediols: Discovery of a novel immunosuppressant, FTY720', *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 5, 853-856, (1995).

Alavian, K.N., Li, H., Collis, L., Bonanni, L., Zeng, L., Sacchetti, S., Lazrove, E., Nabili, P., Flaherty, B., Graham, M., Chen, Y., Messerli, S.M., Mariggio, M.A., Rahner, C., McNay, E., Shore, G.C., Smith, P.J., Hardwick, J.M., Jonas, E.A., 'Bcl-xL regulates metabolic efficiency of neurons through interaction with the mitochondrial F1FO ATP synthase', *Nat. Cell Biol.*, 13, 1224-33, (2011).

Al-Dujaili, S.A., Koh, A.J., Dang, M., Mi, X., Chang, W., Ma, P.X., McCauley, L.K., 'Calcium Sensing Receptor Function Supports Osteoblast Survival and Acts as a Co-Factor in PTH Anabolic Actions in Bone', *J. Cell Biochem.*, 117, 1556-67, (2016).

Allaker, R.P., Grosvenor, P.W., McAnerney, D.C, Sheehan, B.E., Srikanta, B.H., Pell, K., Kapas, S., 'Mechanisms of adrenomedullin antimicrobial action', *Peptides*, 27, 661-6, (2006).

Allan, S.E., Crome, S.Q., Crellin, N.K., Passerini, L., Steiner, T.S., Bacchetta, R., Roncarolo, M.G., Levings, M.K., 'Activation-induced FOXP3 in human T effector cells does not suppress proliferation or cytokine production', *Int. Immunol.*, 19, 345-354, (2007).

Alonso-Villaverde, C., Aragonès, G., Beltran-Debon, R., Fernandez-Sender, L., Rull, A., Rodriguez-Sanabria, F., Marsillach, J., Pardo-Reche, P., Camps, J., Joven, J., 'Host-pathogen interactions in the development of metabolic disturbances and atherosclerosis in HIV infection: the role of CCL2 genetic variants', *Cytokine*, 51, 251-8, (2010).

Alves, A.J., Eynon, N., Oliveira, J., Goldhammer, E., 'RAAS and adrenergic genes in heart failure: Function, predisposition and survival implications', *World J. Cardiol.*, 2, 187-197, (2010).

An, S., Dickens, M.A., Bleu, T., Hallmark, O.G., Goetzl, E.J., 'Molecular cloning of the human Edg2 protein and its identification as a functional cellular receptor for lysophosphatidic acid', *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 231, 619-22, (1997).

Anoop, A., Singh, P.K., Jacob, R.S., Maji, S.K., 'CSF Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis', *Int. Alzheimer Dis.*, 10, 606-802, (2010).

Apelbaum, A., Yarden, G., Warszawski, S., Harari, D., Schreiber, G., 'Type I interferons induce apoptosis by balancing cFLIP and caspase-8 independent of death ligands', *Mol. Cell Biol.*, 33, 800-14, (2013).

Aranha A.A., Amer S., Reda E.S., Broadley S.A., Davoren P.M., 'Autoimmune thyroid disease in the use of alemtuzumab for multiple sclerosis: a review', *Endocr. Pract.*, 19, 821-8, (2013).

Ascherio, A., Munger, K.L., 'Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection', *Annals of Neurology*, 61, 288-299, (2007a).

Ascherio, A., Munger, K.L., 'Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: noninfectious factors', *Annals of Neurology*, 61, 504-513, (2007b).

Aydin, D., Weyer, S. W., Müller, U.C., 'Functions of the APP gene family in the nervous system: insights from mouse models', *Experimental Brain Research*, 217, 423-434, (2012).

Ayoub, M.A., Angelicheva, D., Vile, D., Chandler, D., Morar, B., Cavanaugh, J.A., Visscher, P.M., Jablenky, A., Pflieger, K.D., Kalaydijeva, L., 'Deleterious GRM1 mutations in schizophrenia', *PLoS One*, 7(3), e32849, (2012).

Aziziyeh, A.I., Li, T.T., Pape, C., Pampillo, M., Chidiac, P., Possmayer, F., Babwah, A.V., Bhattacharya, M., 'Dual regulation of lysophosphatidic acid (LPA1) receptor signalling by Ral and GRK'. *Cell Signal.*, 21, 1207-17, (2009).

Bajetto, A., Bonavia, R., Barbero, S., Florio, T., Schettini, G., 'Chemokines and their receptors in the central nervous system', *Front Neuroendocrinol*, 22, 147-184, (2001).

Balashov, K.E., Rottman, J.B., Weiner, H.L., Hancock, W.W., 'CCR5(+) and CXCR3(+) T cells are increased in multiple sclerosis and their ligands MIP-1alpha

and IP-10 are expressed in demyelinating brain lesions', *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 96, 6873-8, (1999).

Ball, D.K., Rachfal, A.W., Kemper, S.A., Brigstock, D.R., 'The heparin-binding 10 kDa fragment of connective tissue growth factor (CTGF) containing module 4 alone stimulates cell adhesion', *J. Endocrinol.*, 176, 1-7, (2003).

Bam, M., Yang, X., Zhou, J., Ginsberg, J.P., Leyden, Q., Nagarkatti, P.S., Nagarkatti, M., 'Evidence for Epigenetic Regulation of Pro-Inflammatory Cytokines, Interleukin-12 and Interferon Gamma, in Peripheral Blood Mononuclear Cells from PTSD Patients', *J. Neuroimmune Pharmacol.*, 11, 168-81, (2016).

Baranzini, S.E., Galwey, N.W., Wang, J., Khankhanian, P., Lindberg, R., Pelletier, D., Wu, W., Uitdehaag, B.M., Kappos, L., Polman, C.H., Matthews, P.M., Hauser, S.L., Gibson, R.A., Oksenberg, J.R., Barnes, M.R., 'Pathway and network-based analysis of genomewide association studies in multiple sclerosis', *Hum. Mol. Genet.*, 18, 2078–2090, (2009).

Barber, D.F., Faure, M., Long, E.O., 'LFA-1 contributes an early signal for NK cell cytotoxicity', *J. Immunol.*, 173, 3653-9, (2004).

Barber, M.F., Michishita-Kioi, E., Xi, Y., Tasselli, L., Kioi, M., Moqtaderi, Z., Tennen, R.I., Paredes, S., Young, N.L., Chen, K., Struhl, K., Garcia, B.A., Gozani, O., Li, W., Chua, K.F., 'SIRT7 links H3K18 deacetylation to maintenance of oncogenic transformation', *Nature*, 487, 114-8, (2012).

Barberis, L., Hirsch, E., 'Targeting phosphoinositide 3-kinase gamma to fight inflammation and more', *Thromb. Haemost.*, 99, 279-85, (2008).

Barten, L.J., Allington, D.R., Procacci, K.A., Rivey, M.P., 'New approaches in the management of multiple sclerosis', *Drug Des Devel Ther.*, 4:343-66, (2010).

Beecham, A.H., Patsopoulos, N.A., ve diğ., 'Analysis of immune-related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple sclerosis', *Nature genetics*, 45, 1353-60, (2013).

Bella, J., Kolatkar, P.R., Marlor, C.W., Greve, J.M., Rossmann, M.G., 'The structure of the two amino-terminal domains of human ICAM-1 suggests how it functions as a rhinovirus receptor and as an LFA-1 integrin ligand', *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 95, 4140-5, (1998).

Bellosillo, B., Colomer, D., Pons, G., Gil, J., 'Mitoxantrone, a topoisomerase II inhibitor, induces apoptosis of B-chronic lymphocytic leukaemia cells', *British Journal of Haematology*, 100, 142–146, (1998).

Benjamins, J.A., 'Molecular structure of the myelin membrane; Multiple sclerosis: immunology, pathology, and pathophysiology', Demos Medical Publishing, New York, 31-50, (2003).

Benou C., Wang Y., Imitola J., VanVlerken L., Chandras C., Karalis K.P., Khoury S.J., 'Corticotropin-releasing hormone contributes to the peripheral inflammatory response in experimental autoimmune encephalomyelitis', *J. Immunol.*, 174, 5407-13, (2005).

Benveniste, E.N., Liu, Y., McFarland, B.C., Qin, H., 'Involvement of the Janus Kinase/Signal Transducer and Activator of Transcription Signaling Pathway in Multiple Sclerosis and the Animal Model of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis', *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 34, 577-588, (2014).

Bettelli, E., Dastrange, M., Oukka, M., 'Foxp3 interacts with nuclear factor of activated T cells and NF-kappa B to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells', *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 102, 5138-43, (2005).

Bielekova, B., Goodwin, B., Richert, N., Cortese, I., Kondo, T., Afshar, G., Grand, B., Eaton, J., Antel, J., Frank, J.A., McFarland, H.F., Martin, R., 'Encephalitogenic potential of the myelin basic protein peptide (amino acids 83–99) in multiple sclerosis: results of a phase II clinical trial with an altered peptide ligand', *Nature Medicine*, 6, 1167–1175, (2000).

Bielekova, B., Sung, M.H., Kadom, N., Simon, R., McFarland, H., Martin, R., 'Expansion and functional relevance of high-avidity myelin-specific CD4⁺ T cells in multiple sclerosis', *Journal of Immunology*, 172, 3893–3904, (2004).

Bloomgren, G., Richman, S., Hotermans, C., Subramanyam, M., Goelz, S., Natarajan, A., Lee, S., Plavina, T., Scanlon, J.V., Sandrock, A., and Bozic, C., 'Risk of Natalizumab-Associated Progressive Multifocal Leukoencephalopathy', *N. Engl. J. Med.*, 366, 1870-1880, (2012).

Blotta, M.H., Marshall, J.D., DeKruyff, R.H., Umetsu, D.T., 'Cross-linking of the CD40 ligand on human CD4⁺ T lymphocytes generates a costimulatory signal that up-regulates IL-4 synthesis', *J. Immunol.*, 156, 3133-40, (1996).

Bocharov, E.V., Mayzel, M.L., Volynsky, P.E., Goncharuk, M.V., Ermolyuk, Y.S., Schulga, A.A., Artemenko, E.O., Efremov, R.G., Arseniev, A.S., 'Spatial structure and pH-dependent conformational diversity of dimeric transmembrane domain of the receptor tyrosine kinase EphA1', *J. Biol. Chem.*, 283, 29385-95, (2008).

Bode, C., Gräler, M.H., 'Immune regulation by sphingosine 1-phosphate and its receptors', *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*, 60, 3-12, (2012).

Bohn, E., Sing, A., Zumbihl, R., Bielfeldt, C., Okamura, H., Kurimoto, M., Heesemann, J., Autenrieth, I.B., 'IL-18 (IFN-gamma-inducing factor) regulates early cytokine production in, and promotes resolution of, bacterial infection in mice', *J. Immunol.*, 160, 299-307, (1998).

- Booth, V., Clark-Lewis, I., Sykes, B.D., 'NMR structure of CXCR3 binding chemokine CXCL11 (ITAC)', *Protein Sci.*, 13, 2022-8, (2004).
- Booth, V., Keizer, D.W., Kamphuis, M.B., Clark-Lewis, I., Sykes, B.D., 'The CXCR3 binding chemokine IP-10/CXCL10: structure and receptor interactions', *Biochemistry*, 41, 10418-25, (2002).
- Bossis, G., Malnou, C.E., Farras, R., Andermarcher, E., Hipskind, R., Rodriguez, M., Schmidt, D., Muller, S., Jariel-Encontre, I., Piechaczyk, M., 'Down-regulation of c-Fos/c-Jun AP-1 dimer activity by sumoylation', *Mol. Cell Biol.*, 25, 6964-79, (2005).
- Brand, C.S., Sadana, R., Malik, S., Smrcka, A.V., Dessauer, C.W., 'Adenylyl Cyclase 5 Regulation by G $\beta\gamma$ Involves Isoform-Specific Use of Multiple Interaction Sites', *Mol. Pharmacol.*, 88, 758-67, (2015).
- Brann D. W., Dhandapani K., Wakade C., Virendra B. Mahesh V.B., Kha M.M., 'Neurotrophic and Neuroprotective Actions of Estrogen: Basic Mechanisms and Clinical Implications', *Steroids*, 72, 381-405, (2007).
- Braz, J.C., Gregory, K., Pathak, A., Zhao, W., Sahin, B., Klevitsky, R., Kimball, T.F., Lorenz, J.N., Nairn, A.C., Liggett, S.B., Bodi, I., Wang, S., Schwartz, A., Lakatta, E.G., DePaoli-Roach, A.A., Robbins, J., Hewett, T.E., Bibb, J.A., Westfall, M.V., Kranias, E.G., Molkentin, J.D., 'PKC-alpha regulates cardiac contractility and propensity toward heart failure', *Nat. Med.*, 10, 248-54, (2004).
- Browne, P., Chandraratna, D., Angood, C., Tremlett, H., Baker, C., Taylor, B. V., Thompson, A. J., 'Atlas of Multiple Sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity', *Neurology*, 83, 1022-1024, (2014).
- Brownlie, P., Ceska, T., Lamers, M., Romier, C., Stier, G., Teo, H., Suck, D., 'The crystal structure of an intact human Max-DNA complex: new insights into mechanisms of transcriptional control', *Structure*, 5, 509-20, (1997).
- Bruey, J.M., Bruey-Sedano, N., Luciano, F., Zhai, D., Balpai, R., Xu, C., Kress, C.L., Bailly-Maitre, B., Li, X., Osterman, A., Matsuzawa, S., Terskikh, A.V., Faustin, B., Reed, J.C., 'Bcl-2 and Bcl-XL regulate proinflammatory caspase-1 activation by interaction with NALP1', *Cell*, 129, 45-56, (2007).
- Bruno, M.A., Leon, W.C., Fragoso, G., Mushynski, W.E., Almazan, G., Cuello, A.C., 'Amyloid beta-induced nerve growth factor dysmetabolism in Alzheimer disease', *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 68, 857-69, (2009).
- Cadalbert, L.C., Sloss, C.M., Cunningham, M.R., Al-Mutairi, M., McIntire, A., Shipley, J., Plevin, R., 'Differential regulation of MAP kinase activation by a novel splice variant of human MAP kinase phosphatase-2', *Cell Signal.*, 22, 57-65, (2010).

- Cai, B., Wang, S., Huang, J., Lee, C.K., Gao, C., Liu, B., 'Cladribine and bendamustine exhibit inhibitory activity in dexamethasone-sensitive and -resistant multiple myeloma cells', *Am. J. Transl. Res.*, 5, 36-46, (2013).
- Calabrese, G., Sallese, M., Stornaiuolo, A., Stuppia, L., Palka, G., De Blasi, A., 'Chromosome mapping of the human arrestin (SAG), beta-arrestin 2 (ARRB2), and beta-adrenergic receptor kinase 2 (ADRBK2) genes', *Genomics*, 23, 286-8, (1994).
- Calabresi, P.A., Tranquill, L.R., Dambrosia, J.M., Stone, L.A., Maloni, H., Bash, C. N., Frank, J. A., McFarland, H.F., 'Increases in soluble VCAM-1 correlate with a decrease in MRI lesions in multiple sclerosis treated with interferon beta-1b', *Ann. Neurol.*, 41, 669-674, (1997).
- Campagnoni, A.T., Skoff, R.P., 'The pathobiology of myelin mutants reveal novel biological functions of the MBP and PLP genes', *Brain Pathol.*, 11, 74–91, (2001).
- Cannella, B., Pitt, D., Marchionni, M., Raine, C.S., 'Neuregulin and erbB receptor expression in normal and diseased human white matter', *J. Neuroimmunol.*, 100, 233-242, (1999).
- Caporro, M., Disanto, G., Gobbi, C., Zecca, C., 'Two decades with glatiramer acetate subcutaneous injection - the current role of standard and new high dose – low frequency glatiramer acetate in relapsing remitting multiple sclerosis treatment', *Journal of Patient Preference and Adherence*, 8, 1123-1334, (2014).
- Capoulade-Métay, C., Ayouba, A., Kfutwah, A., Lole K, Petres, S., Dudoit, Y., Deterre, P., Menu, E., Barre-Sinoussi, F., Debre, P., Theodorou, I., 'A natural CCL5/RANTES variant antagonist for CCR1 and CCR3', *Immunogenetics*, 58, 533-41, (2006).
- Carey, A.J., Tan, C.K., Ulett, G.C., 'Infection-induced IL-10 and JAK-STAT: A review of the molecular circuitry controlling immune hyperactivity in response to pathogenic microbes', *JAKSTAT*, 1, 159–167, (2012).
- Chai, Y., Chipitsyna, G., Cui, J., Liao, B., Liu, S., Aysola, K., Yezdani, M., Reddy, E.S., Rao, V.N., 'c-Fos oncogene regulator Elk-1 interacts with BRCA1 splice variants BRCA1a/1b and enhances BRCA1a/1b-mediated growth suppression in breast cancer cells', *Oncogene*, 20, 1357-67, (2001).
- Chen, M., Chen, G., Nie, H., Zhang, X., Niu, X., Zang, Y.C., Skinner, S.M., Zhang, J.Z., Killian, J.M., Hong, J., 'Regulatory effects of IFN-beta on production of osteopontin and IL-17 by CD4+ T Cells in MS', *Eur. J. Immunol.*, 39, 2525-36, (2009).
- Chen, Y.Z., Friedman, J.R., Chen, D.H., Chan, G.C., Bloss, C.S., Hisama, F.M., Topol, S.E., Carson, A.R., Pham, P.H., Bonkowski, E.S., Scott, E.R., Lee, J.K., Zhang, G., Oliveira, G., Xu, J., Scott-Van Zeeland, A.A., Chen, Q., Levy, S., Topol,

- E.J., Storm, D., Swanson, P.D., Bird, T.D., Schork, N.J., Raskind, W.H., Torkamani, A., 'Gain-of-function ADCY5 mutations in familial dyskinesia with facial myokymia', *Ann. Neurol.*, 75, 542-9, (2014).
- Cheng, W., Chen G., 'Chemokines and Chemokine Receptors in Multiple Sclerosis' *Mediators of Inflammation*, 659206, (2014).
- Chinen, Y., Kuroda, J., Shimura, Y., Nagoshi, H., Kiyota, M., Yamamoto-Sugitani, M., Mizutani, S., Sakamoto, N., Ri, M., Kawata, E., Kobayashi, T., Matsumoto, Y., Horiike, S., Iida, S., Taniwaki, M., 'Phosphoinositide protein kinase PDPK1 is a crucial cell signaling mediator in multiple myeloma', *Cancer Res.*, 74, 7418-29, (2014).
- Chrencik, J.E., Roth, C.B., Terakado, M., Kurata, H., Omi, R., Kihara, Y., Warshaviak, D., Nakade, S., Asmar-Rovira, G., Mileni, M., Mizuno, H., Griffith, M.T., Rodgers, C., Han, G.W., Velasquez, J., Chun, J., Stevens, R.C., Hanson, M.A., 'Crystal Structure of Antagonist Bound Human Lysophosphatidic Acid Receptor 1', *Cell*, 161, 1633-43, (2015).
- Chun, J., Hartung, H.P., 'Mechanism of action of oral FTY720 (FTY720) in multiple sclerosis', *Clin. Neuropharmacol.*, 33:91-101, (2010).
- Cocchi, F., DeVico, A.L., Garzino-Demo, A., Arya, S.K., Gallo, R.C., Lusso, P., 'Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells', *Science*, 270, 1811-5, (1995).
- Cocos, R., Schipor, S., Nicolae, I., Thomescu, C., Raicu, F., 'Role of COX-2 activity and CRP levels in patients with non-melanoma skin cancer -765G>C PTGS2 polymorphism and NMSC risk', *Arch. Dermatol. Res.*, 304, 335-42, (2012).
- Cohen, J. A., Chun, J., 'Mechanisms of FTY720's Efficacy and Adverse Effects in Multiple Sclerosis', *Ann. Neurol*, 69, 759-777, (2011).
- Cohen, J.A., Barkhof, F., Comi, G., Hartung, H.P., Khatri, B.O., Montalban, X., Pelletier, J., Capra, R., Gallo, P., Izquierdo, G., Tiel-Wilck, K., de Vera, A., Jin, J., Stites, T., Wu, S., Aradhye, S., Kappos, L., 'Oral FTY720 or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis', *New England Journal of Medicine*, 362, 402-415, (2010).
- Coles A., 'Newer therapies for multiple sclerosis', *Annals of Indian Academi of Neurology*, 18, 30-34., (2015).
- Compston, A., 'The 150th anniversary of the first depiction of the lesions of multiple sclerosis' *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.*, 51, 1249-5, (1988).
- Compston, A., Coles, A., 'Multiple sclerosis', *Lancet*, 359, 1221-31, (2002).

- Cong, L.N., Chen, H., Li, Y., Zhou, L., McGibbon, M.A., Taylor, S.I., Quon, M.J., 'Physiological role of Akt in insulin-stimulated translocation of GLUT4 in transfected rat adipose cells', *Mol. Endocrinol.*, 11, 1881-90, (1997).
- Corry, D.B., Kiss, A., Song, L.Z., Song, L., Xu, J., Lee, S.H., Werb, Z., Kheradmand, F., 'Overlapping and independent contributions of MMP2 and MMP9 to lung allergic inflammatory cell egression through decreased CC chemokines', *FASEB J.*, 18, 995-7, (2004).
- Coscoy, L., Ganem, D., 'A viral protein that selectively downregulates ICAM-1 and B7-2 and modulates T cell costimulation', *J. Clin. Invest.*, 107, 1599-606, (2001).
- Coste, S.C., Kesterson, R.A., Heldwein, K.A., Stevens, S.L., Heard, A.D., Hollis, J.H., Murray, S.E., Hill, J.K., Pantely, G.A., Hohimer, A.R., Hatton, D.C., Phillips, T.J., Finn, D.A., Low, M.J., Rittenberg, M.B., Stenzel, P., Stenzel-Poore, M.P., 'Abnormal adaptations to stress and impaired cardiovascular function in mice lacking corticotropin-releasing hormone receptor-2', *Nat. Genet.*, 24, 403-9, (2000).
- Crise, B., Buonocore, L., Rose, J.K., 'CD4 is retained in the endoplasmic reticulum by the human immunodeficiency virus type 1 glycoprotein precursor', *J. Virol.*, 64, 5585-93, (1990).
- Crossley, R.J., 'Clinical safety and tolerance of mitoxantrone', *Seminars in Oncology*, 11, 54-58, (1984).
- Cunningham, M.L., Waldo, G.L., Hollinger, S., Hepler, J.R., Harden, T.K., 'Protein kinase C phosphorylates RGS2 and modulates its capacity for negative regulation of G alpha 11 signaling', *J. Biol. Chem.*, 276, 5438-44, (2001).
- Cyster, J.G., Schwab S.R., 'Sphingosine-1-phosphate and lymphocyte egress from lymphoid organs', *Ann. Rev. Immunol.*, 30, 69-94, (2012).
- Dale, M., Nicklin, M.J., 'Interleukin-1 receptor cluster: gene organization of IL1R2, IL1R1, IL1RL2 (IL-1Rrp2), IL1RL1 (T1/ST2), and IL18R1 (IL-1Rrp) on human chromosome 2q', *Genomics*, 57, 177-9, (1999).
- Davies, A.L., Desai, R.A., Bloomfield, P.S., McIntosh, P.R., Chapple, K.J., Linington, C., Fairless, R., Diem, R., Kasti, M., Murphy, M.P. and Smith, K.J., 'Neurological deficits caused by tissue hypoxia in neuroinflammatory disease', *Annals Neurology*, 74, 815-825, (2013).
- Dawson, M.A., Bannister, A.J., Göttgens, B., Foster, S.D., Bartke, T., Green, A.R., Kouzarides, T., 'JAK2 phosphorylates histone H3Y41 and excludes HP1alpha from chromatin', *Nature*, 461, 819-22, (2009).
- Deckx N., Lee W., Berneman Z.N., Cools N., 'Neuroendocrine Immunoregulation in Multiple Sclerosis', *Clinical and Developmental Immunology*, 23, 705-232, (2013).

- Dendrou, C.A., Fugger, L., Friese, M.A., 'Immunopathology of multiple sclerosis', *Nature Review Immunology*, 15, 545-558, (2015).
- Deng, S., Tang, S., Dai, C., Zhou, Y., Yang, X., Li, D., Xiao, X., 'P21(Waf1/Cip1) plays a critical role in furazolidone-induced apoptosis in HepG2 cells through influencing the caspase-3 activation and ROS generation', *Food Chem. Toxicol.*, 88, 1-12, (2016).
- Dias, I.H.K., Mistry, J., Fell, S., Reis, A., Spickett, C.M., Polidori, M.C., Lip, G.Y.H., Griffiths, H.R., 'Oxidized LDL lipids increase β -amyloid production by SH-SY5Y cells through glutathione depletion and lipid raft formation' *Free Radic. Biol. Med.*, 75, 48-59, (2014).
- Ding, Q., Gros, R., Gray, I.D., Taussig, R., Ferguson, S.S., Feldman, R.D., 'Raf kinase activation of adenylyl cyclases: isoform-selective regulation', *Mol. Pharmacol.*, 66, 921-8, (2004).
- Dohlman, H., Thorner, J., 'RGS proteins and signaling by heterotrimeric G proteins', *J. Biol. Chem.*, 272, 3871-3874, (1997).
- Donato, A.J., Lesniewski, L.A., Stuart, D., Walker, A.E., Henson, G., Sorensen, L., Li, D., Kohan, D.E., 'Smooth muscle specific disruption of the endothelin-A receptor in mice reduces arterial pressure, and vascular reactivity and affects vascular development', *Life Sci.*, 118, 238-43, (2014).
- Dong, Q., Shenker, A., Way, J., Haddad, B.R., Lin, K., Hughes, M.R., McBride, O.W., Spiegel, A.M., Battey, J., 'Molecular cloning of human G alpha q cDNA and chromosomal localization of the G alpha q gene (GNAQ) and a processed pseudogene', *Genomics*, 30, 470-75, (1995).
- Dore-Duffy, P., Newman, W., Balabanov, R., ve diğ., 'Circulating, soluble adhesion proteins in CSF and serum of patients with MS: correlation with clinical activity', *Ann. Neurol.*, 37, 55-62, (1995).
- Downes, G.B., Gautam, N., 'The G protein subunit gene families', *Genomics*, 62, 544-552, (1999).
- Driessler, F., Venstrom, K., Sabat, R., Asadullah, K., Schottelius, A.J., 'Molecular mechanisms of interleukin-10-mediated inhibition of NF- κ B activity: a role for p50', *Clin. Exp. Immunol.*, 135, 64-73, (2004).
- Du C., Xie, X., 'G protein-coupled receptors as therapeutic targets for multiple sclerosis', *Cell Research*, 22, 1108-1128, (2012).
- Du, J., Huang, C., Zhou, B., Ziegler, S.F., 'Isoform-specific inhibition of ROR alpha-mediated transcriptional activation by human FOXP3', *J. Immunol.*, 180, 4785-92, (2008).

Dyment, D.A., Steckley, J.L., Morrison, K., Willer, C.J., Cader, M.Z., DeLuca, G.C., Sadovnick, A.D., Risch, N., Ebers, G.C., 'TCR β polymorphisms and multiple sclerosis', *Genes and Immunity*, 5, 337–342, (2004).

Ehret, G.B., Munroe, P.B., Rice, K.M., Bochud, M., Johnson, A.D., Chasman, D.I., Smith, A.V., Tobin, M.D., Verwoert, G.C., Hwang, S.J., Pihur, V., Vollenweider, P., O'Reilly, P.F., Amin, N., Bragg-Gresham, J.L., Teumer, A., Glazer, N.L., Launer, L., Zhao, J.H., Aulchenko, Y., Heath, S., Söber, S., Parsa, A., Luan, J., Arora, P., Dehghan, A., Zhang, F., Lucas, G., Hicks, A.A., Jackson, A.U., Peden, J.F., Tanaka, T., Wild, S.H., Rudan, I., Igl, W., Milaneschi, Y., et al., 'Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk', *Nature*, 478, 103-9, (2011).

El-Hoss, J., Arabian, A., Dedhar, S., St-Arnaud, R., 'Inactivation of the integrin-linked kinase (ILK) in osteoblasts increases mineralization', *Gene*, 533, 246-52, (2014).

Eliopoulos, A.G., Wang, C.C., Dumitru, C.D., Tsihchlis, P.N., 'Tpl2 transduces CD40 and TNF signals that activate ERK and regulates IgE induction by CD40', *EMBO J.*, 22, 3855-64, (2003).

Emanuelsson, I., Norlin, M., 'Protective effects of 27- and 24-hydroxycholesterol against staurosporine-induced cell death in undifferentiated neuroblastoma SH-SY5Y cells', *Neurosci. Lett.*, 525, 44-8, (2012).

Ersoy, E., Kuş, C.N., Sener, U., Coker, I., Zorlu, Y., 'The effects of interferon-beta on interleukin-10 in multiple sclerosis patients', *Eur. J. Neurol.*, 12, 208-11, (2005).

Faiola, F., Wu, Y.T., Pan, S., Zhang, K., Farina, A., Martinez, E., 'Max is acetylated by p300 at several nuclear localization residues', *Biochem. J.*, 403, 397-407.

Fang, X., Yu, S.X., Lu, Y., Bast, B.C., Woodgett, J.R., Mills, G.B., 'Phosphorylation and inactivation of glycogen synthase kinase 3 by protein kinase', *PNAS*, 97, 11960-5, (2000).

Faraco G., Cavone L., Chiarugi A., 'The Therapeutic Potential of HDAC Inhibitors in the Treatment of Multiple Sclerosis', *Mol. Med.*, 17, 442-447, (2011).

Farfel, Z., Iiri, T., Shapira, H., Roitman, A., Mouallem, M., Bourne, H.R., 'Pseudohypoparathyroidism, a novel mutation in the betagamma-contact region of G α impairs receptor stimulation', *J. Biol. Chem.*, 271, 19653-5, (1996).

Fenger-Grøn, M., Fillman, C., Norrild, B., Lykke-Andersen, J., 'Multiple processing body factors and the ARE binding protein TTP activate mRNA decapping', *Mol. Cell.*, 20, 905-15, (2005).

Festen, E.A.M., Goyette, P., Scott, R., Annese, V., Zhernakova, A., Lian, J., Lefebvre, C., Brant, S.R., Cho, J.H., Silverberg, M.S., Taylor, K.D., De Jong, D.J.,

Stokkers, P.C., McGovern, D., Palmieri, O., Achkar, J.P., Xavier, R.J., Daly, M.J., Duerr, R.H., Wijmenga, C., Weersma, R.K., Rioux, J.D. 'Genetic Variants in the Region Harboring IL2/IL21 Associated to Ulcerative Colitis', *Gut*, 58, 799–804, (2009).

Fidler, J.M., DeJoy, S.Q., Gibbons, J.J., 'Selective immunomodulation by the antineoplastic agent mitoxantrone I Suppression of B lymphocyte function', *Journal of Immunology*, 137, 727–732, (1986).

Fischer, M., Quaas, M., Nickel, A., Engeland, K., 'Indirect p53-dependent transcriptional repression of Survivin, CDC25C, and PLK1 genes requires the cyclin-dependent kinase inhibitor p21/CDKN1A and CDE/CHR promoter sites binding the DREAM complex', *Oncotarget*, 6, 41402-17, (2015).

Fontenot, J.D., Gavin, M.A., Rudensky, A.Y., 'Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells', *Nature Immunology*, 4, 330-6, (2003).

Fontenot, J.D., Rasmussen, J.P., Williams, L.M., Dooley, J.L., Farr, A.G., Rudensky, A.Y., 'Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor foxp3', *Immunity*, 22, 329-41, (2005).

Foster, C.A., Mechtcheriakova, D., Storch, M.K. et al., 'FTY720 rescue therapy in the dark agouti rat model of experimental autoimmune encephalomyelitis: expression of central nervous system genes and reversal of blood-brain barrier damage', *Brain Pathol.*, 19, 254-66, (2009).

Fox, E.J., 'Management of Worsening Multiple Sclerosis With Mitoxantrone: A Review', *Clin. Ther.*, 28, 461-474, (2006).

Frank, M., 'MAL, a proteolipid in glycosphingolipid enriched domains: functional implications in myelin and beyond', *Prog. Neurobiol.*, 60, 531-44, (2000).

Frank, M., Schaeren-Wiemers, N., Schneider, R., Schwab, M.E., Developmental expression pattern of the myelin proteolipid MAL indicates different functions of MAL for immature Schwann cells and in a late step of CNS myelinogenesis, *J. Neurochem.*, 73, 587-97, (1999).

Fujisawa, T., Ikegami, H., Yamato, E., Takekawa, K., Nakagawa, Y., Hamada, Y., Ueda, H., Fukuda, M., Ogihara, T. 'A mutation in the glucagon receptor gene (Gly40Ser): heterogeneity in the association with diabetes mellitus', *Diabetologia*, 38, 983-5, (1995).

Fujita, T., Inoue, K., Yamamoto, S., Ikumoto, T., Sasaki, S., Toyama, R., Chiba, K., Hoshino, Y., Okumoto, T., 'Fungal metabolites. Part11. A potent immunosuppressive activity found in *Isaria sinclairii* metabolite', *J. Antibiot.*, 47, 208–215, (1994).

Gaber, T., Strehl, C., Sawitzki, B., Hoff, P., Buttgerit, F., 'Cellular energy metabolism in T-lymphocytes', *International Review Immunology*, 34, 34-49, (2015).

Gaffin, J.M., Raby, B.A., Petty, C.R., Hoffman, E.B., Baccarelli, A.A., Gold, D.R., Phipatanakul, W., ' β -2 adrenergic receptor gene methylation is associated with decreased asthma severity in Inner-City School Children', *Clin. Exp. Allergy.*, 44, 681-689, (2014).

Gál, P., Ambrus, G., Závodszky, P., 'C1s, the protease messenger of C1. Structure, function and physiological significance', *Immunobiology*, 205, 383-394, (2002).

Gao, X., Sadana, R., Dessauer, C.W., Patel, T.B., 'Conditional stimulation of type V and VI adenylyl cyclases by G protein betagamma subunits', *J. Biol. Chem.*, 282, 294-302, (2006).

George, J., Headen, K.V., Ogunleye, A.O., Perry, G.A., Wilwerding, T.M., Parrish, L.C., McVaney, T.P., Mattson, J.S., Cerutis, D.R., 'Lysophosphatidic Acid signals through specific lysophosphatidic Acid receptor subtypes to control key regenerative responses of human gingival and periodontal ligament fibroblasts', *J. Periodontol.*, 80, 1338-47, (2009).

Ghalie, R.G., Edan, G., Laurent, M., 'Cardiac adverse effects associated with mitoxantrone (Novantrone) therapy in patients with MS', *Neurology*, 59, 909-913, (2002).

Ghazi-Visser, L., Laman, J.D., Nagel, S., van Meurs, M., van Riel, D., Tzankov, A., Frank, S., Adams, H., Wolk, K., Terracciano, L., Melief, M.J., Sabat, R., Günthert, U., 'CD44 variant isoforms control experimental autoimmune encephalomyelitis by affecting the lifespan of the pathogenic T cells', *FASEB Journal*, 27, 3683-3701, (2013).

Ghosh, D., Griswold, J., Erman, M., Pangborn, W., 'Structural basis for androgen specificity and oestrogen synthesis in human aromatase', *Nature*, 457, 219-23, (2009).

Gijbels, K., Masure, S., Carton, H., Opdenakker, G., 'Gelatinase in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis and other inflammatory neurological disorders', *J. Neuroimmunol.*, 41, 29-34, (1992).

Gilman, A.G., 'G proteins: transducers of receptor-generated signals', *Ann. Rev. Biochem.*, 56, 615-649, (1987).

Gilmore, T.D., 'Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives', *Oncogene*, 25, 6680-6684, (2006).

Gomes, A.C., Jönsson, G., Mjörnheim, S., Olsson, T., Hillert, J., Grandien, A., 'Upregulation of the apoptosis regulators cFLIP, CD95 and CD95 ligand in

peripheral blood mononuclear cells in relapsing-remitting multiple sclerosis.’, *J. Neuroimmunol.*, 135, 126-34, (2003).

Goris, A., Williams-Gray, C.H., Foltynie, T., Brown, J., Maranian, M., Walton, A., Compston, D.A., Barker, R.A., Sawcer, S.J., ‘Investigation of TGFB2 as a candidate gene in multiple sclerosis and Parkinson's disease’, *Journal of Neurology*, 254, 846–848, (2007).

Goverman, J., ‘Autoimmune T cell responses in the central nervous system’, *Nature Reviews Immunology*, 9, 393–407, (2009).

Green, D.R., ‘Apoptotic pathways: paper wraps stone blunts scissors’, *Cell*, 102, 1-4, (2000).

Greve, J.M., Davis, G., Meyer, A.M., Forte, C.P., Yost, S.C., Marlor, C.W., Kamarck, M.E., McClelland, A., ‘The major human rhinovirus receptor is ICAM-1’, *Cell*, 56, 839-47, (1989).

Gruol, D.L., ‘IL-6 regulation of synaptic function in the CNS’, *Neuropharmacology*, 96, 42-54, (2015).

Guenterberg, K.D., Lesinski, G.B., Mundy-Bosse, B.L., Karpa, V.I., Jaime-Ramirez, A.C., Wei, L., Carson, W.E., ‘Enhanced anti-tumor activity of interferon-alpha in SOCS1-deficient mice is mediated by CD⁺ and CD8⁺ T cells’, *Cancer Immunol. Immunother.*, 60, 1281-8, (2011).

Guilluy, C., Brégeon, J., Toumaniantz, G., Rolli-Derkinderen, M., Retailleau, K., Loufrani, L., Henrion, D., Scalbert, E., Bril, A., Torres, R.M., Offermanns, S., Pacaud, P., Loirand, G., ‘The Rho exchange factor Arhgef1 mediates the effects of angiotensin II on vascular tone and blood pressure’, *Nat. Med.*, 16, 183-90, (2010).

Guo, F.H., De Raeve, H.R., Rice, T.W., Stuehr, D.J., Thunnissen, F.B., Erzurum, S.C., ‘Continuous nitric oxide synthesis by inducible nitric oxide synthase in normal human airway epithelium in vivo’, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92, 7809-13, (1995).

Guo, J., Wang, L., Zhang, Y., Wu, J., Arpag, S., Hu, B., Imhof, B.A., Tian, X., Carter, B.D., Suter, U., Li, J., ‘Abnormal junctions and permeability of myelin in PMP22-deficient nerves’, *Ann. Neurol.*, 75, 255-65, (2014).

Hafler, D.A., Compston, A., Sawcer, S., Lander, E.S., Daly, M.J., De Jager, P. L., de Bakker, P.I., Gabriel, S.B., Mirel D.B., Ivinson, A.J., Pericak-Vance, M.A., Gregory, S.G., Rioux J.D., McCauley, J.L., Haines, J.L., Barcellos, L.F., Cree, B., Oksenberg, J.R., Hauser, S.L., ‘Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genome wide study’, *The New England Journal of Medicine*, 357, 851–862, (2007).

Haider, L., Fischer, M.T., Frischer, J.M., Bauer, J., Höftberger, R., Botond, G., Esterbauer, H., Binder, C.J., Witztum, J.L., Lassmann, H., ‘Oxidative damage in multiple sclerosis lesions’, *Brain*, 1914-24, (2011).

- Hait N.C., Wise L.E., Allegood J.C., O'Brien M., Avni D., Reeves T.M., Knapp P.E., Lu J., Luo C., Miles M.F., Milstien S., Lichtman A.H., Spiegel S., 'Active, phosphorylated FTY720 inhibits histone deacetylases and facilitates fear extinction memory', *Nature Neuroscience*, 17, 971–980, (2014).
- Han, J.Y., Wang, H., Xie, Y.T., Li, Y., Zheng, L.Y., Ruan, Y., Song, A.P., Tian, X.X., Fang, W.G., 'Association of germline variation in CCNE1 and CDK2 with breast cancer risk, progression and survival among Chinese Han women', *PLoS One*, 7(11), e49296, (2012).
- Handel, A.E., Jarvis, L., McLaughlin, R., Fries, A., Ebers, G.C., Ramagopalan, S.V., 'The Epidemiology of Multiple Sclerosis in Scotland: Inferences from Hospital Admissions', *Plos one*, 6(1), e14606, (2011).
- Handunnetthi, L., Ramagopalan, S. V., Ebers, G.C., 'Multiple sclerosis, vitamin D, and HLA-DRB1*15', *Neurology*, 74, 1905-1910, (2010).
- Hartmann, D., Tournoy, J., Saftig, P., Annaert, W., De Strooper, B., 'Implication of APP secretases in notch signaling', *J. Mol. Neurosci.*, 17, 171-81, (2001).
- Hartung, H.P., Aktas, O., Kieseier, B., Comi, G.C., 'Development of oral cladribine for the treatment of multiple sclerosis', *J. Neurol.*, 257, 163–70, (2010).
- Hartung, H.P., Archelos, J.J., Zielasek, J. ve diğ., 'Circulating adhesion molecules and inflammatory mediators in demyelination: A review', *Neurology*, 45, 22-32, (1995).
- Hauser, S.L., Bhan, A.K., Gilles, F., Kemp, M., Kerr, C., Weiner, H.L., 'Immunohistochemical analysis of the cellular infiltrate in multiple sclerosis lesions', *Ann. Neurol.*, 19, 578-87, (1986).
- Havrdova, E., Galetta, S., Hutchinson, M., Stefoski, D., Bates, D., Polman, C. H., O'Connor, P.W., Giovannoni, G., Philips, J.T., Lublin, F.D., Pace, A., Kim, R., Hyde, R., 'Effect of natalizumab on clinical and radiological disease activity in multiple sclerosis: a retrospective analysis of the Natalizumab Safety and Efficacy in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis (AFFIRM) study', *Lancet Neurology*, 8, 254–260, (2009).
- He, M.X., He, Y.W., 'CFLAR/c-FLIPL: a star in the autophagy, apoptosis and necroptosis alliance', *Autophagy*, 9, 791-3, (2013).
- Heneka, M.T., Kummer, M.P., Latz, E., 'Innate immune activation in neurodegenerative disease', *Nature Review Immunology*, 14, 463–477, (2014).
- Hersh, C., Rae-Grant, A., 'Extended-release dalfampridine in the management of multiple-sclerosis-related walking impairment', *Ther. Adv. Neurol. Disord.*, 5, 199-204, (2012).

Hibi, M., Murakami, M., Saito, M., Hirano, T., Taga, T., Kishimoto, T., 'Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130', *Cell*, 63, 1149-57, (1990).

Hiscott, J., Nguyen, T.L., Arguello, M., Nakhaei, P., Paz, S., 'Manipulation of the nuclear factor-kappaB pathway and the innate immune response by viruses', *Oncogene*, 25, 6844-67, (2006).

Hjorthaug, H.S., Aasheim, H.C., 'Ephrin-A1 stimulates migration of CD8+CCR7+ T lymphocytes', *Eur. J. Immunol.*, 37, 2326-2336, (2007).

Hla, T., Maciag, T., 'An abundant transcript induced in differentiating human endothelial cells encodes a polypeptide with structural similarities to G-protein-coupled receptors', *J. Biol. Chem.*, 265, 9308-13, (1990).

Ho, S.Y., Catalanotto, F.A., Lisak, R.P., Dore-Duffy, P., 'Zinc in multiple sclerosis. II. Correlation with disease activity and elevated plasma membrane-bound zinc in erythrocytes from patients with multiple sclerosis', *Ann. Neurol.*, 20, 712-715, (1986).

Hodson, D.J., Mitchell, R.K., Marselli, L., Pullen, T.J., Gimeno Brias, S., Semplici, F., Everett, K.L., Cooper, D.M., Bugliani, M., Marchetti, P., Lavallard, V., Bosco, D., Piemonti, L., Johnson, P.R., Hughes, S.J., Li, D., Li, W.H., Shapiro, A.M., Rutter, G.A., 'ADCY5 couples glucose to insulin secretion in human islets', *Diabetes*, 63, 3009-21, (2014).

Hokari, A., Zeniya, M., Esumi, H., 'Cloning and functional expression of human inducible nitric oxide synthase (NOS) cDNA from a glioblastoma cell line A-172', *J. Biochem.*, 116, 575-81, (1994).

Hori, S., Nomura, T., Sakaguchi, S., 'Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3', *Science*, 299, 1057-61, (2003).

Horie, R., 'NF-kappaB in pathogenesis and treatment of adult T-cell leukemia/lymphoma', *Internat. Rev. of Immun.*, 26, 269- 81, (2007).

Hu, S., Xie, Z., Onishi, A., Yu, X., Jiang, L., Lin, J., Rho, H., Woodard, C., Wang, H., Jeong, J.S., Long, S., He, X., Wade, H., Blackshaw, S., Qian, J., Zhu, H., 'Profiling the Human Protein-DNA Interactome Reveals MAPK1 as a Transcriptional Repressor of Interferon Signalling', *Cell*, 139, 610-622, (2009).

Huang, Z., Wang, L., Chen, L., Zhang, Y., Shi, P., 'Induction of cell cycle arrest via the p21, p27-cyclin E,A/Cdk2 pathway in SMMC-7721 hepatoma cells by clioquinol', *Acta Pharm.*, 65, 463-71, (2015).

Hwangbo, C., Tae, N., Lee, S., Kim, O., Park, O.K., Kim, J., Kwon, S.H., Lee, J.H., 'Syntenin regulates TGF- β 1-induced Smad activation and the epithelial-to-

mesenchymal transition by inhibiting caveolin-mediated TGF- β type I receptor internalization', *Oncogene*, 21, 389-401, (2016).

Iarlori, C., Reale, M., Lugaresi, A., De Luca, G., Bonanni, L., Di Iorio, A., Feliciani, C., Conti, P., Gambi, D. 'RANTES production and expression is reduced in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with interferon-b-1b', *J. Neuroimmunol.*, 107, 100-107, (2000).

Iijima, S., Teraoka, H., Date, T., Tsukada, K., 'DNA-activated protein kinase in Raji Burkitt's lymphoma cells. Phosphorylation of c-Myc oncoprotein', *Eur. J. Biochem.*, 206, 595-603, (1992).

Imeri, F., Blanchard O., Jenni A., Schwalm, S., Wünsche C., Zivkovic, A., Stark, H., Pfeilschifter, J., Huwiler, A., 'FTY720 and two novel butterfly derivatives exert a general anti-inflammatory potential by reducing immune cell adhesion to endothelial cells through activation of S1P3 and phosphoinositide 3-kinase', *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 388,1283-1292, (2015).

Imeri, F., Fallegger, D., Zivkovic, A., Schwalm, S., Enzmann, G., Blankenbach, K., Heringdorf, M.D., Homann, T., Kleuser, B., Pfeilschifter, J., Engelhardt, B., Stark, H., Huwiler, A., 'Novel oxazolo-oxazole derivatives of FTY720 reduce endothelial cell permeability, immune cell chemotaxis and symptoms of experimental autoimmune encephalomyelitis in mice', *Neuropharmacology*, 85, 314-27, (2014).

Imitola, J., Makhlof, A., Khoury, S.J., 'Role of neural stem and oligodendrocyte progenitor cells in demyelinating diseases: insights into disease mechanisms and therapeutic potential, Disorders of myelin in the central and peripheral nervous system', (Dangond F., eds) Woburn MA, Butterworth Heinemann, 57-81, (2002).

Ingram, G., Hakobyan, S., Hirst, S. L., Harris, C. L., Loveless, S., Mitchell, J. P., Pickersgill, T. P., Robertson, N. P., Morgan, B. P., 'Systemic complement profiling in multiple sclerosis as a biomarker of disease state', *Multiple Sclerosis*, 18, 1401-1411, (2012).

Ingram, G., Hakobyan, S., Robertson, N.P. Morgan, B.P., 'Complement in multiple sclerosis: its role in disease and potential as a biomarker', *Clinical Experimental Immunology*, 155,128-139, (2009).

Ito, A., Kawaguchi, Y., Lai, C.H., Kovacs, J.J., Higashimoto, Y., Appella, E., Yao, T.P., 'MDM2-HDAC1-mediated deacetylation of p53 is required for its degradation', *EMBO J.*, 21, 6236-45, (2002).

Jaakola, V.P., Griffith, M.T., Hanson, M.A., Cherezov, V., Chien, E.Y., Lane, J.R., Ijzerman, A.P., Stevens, R.C., 'The 2.6 angstrom crystal structure of a human A2A adenosine receptor bound to an antagonist', *Science*, 322, 1211-7, (2008).

Jacobs, L.D., Cookfair, D.L., Rudick, R.A., Herndon, R.M., Richert, J.R., Salazar, A.M., Fischer, J.S., Goodkin, D.E., Granger, C.V., Simon, J.H., Alam, J.J., Bartoszak, D.M., Bourdette, D.N., Braiman, J., Brownschidle, C.M., Coats, M.E., Cohan, S.L., Dougherty, D.S., Kinkel, R.P., Mass, M.K., Munschauer, F.E., Priore, R.L., Pullicino, P.M., Scherokman, B.J., Whitham, R.H., 'Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis', *Annals of Neurology*, 39, 285-294, (1996).

Jakel, H., Weinl, C., Hengst, L., 'Phosphorylation of p27Kip1 by JAK2 directly links cytokine receptor signaling to cell cycle control', *Oncogene*, 30, 3502-12, (2011).

Jakkula, E., Leppa, V., Sulonen, A.M., Varilo, T., Kallio, S., Kempainen, A., Purcell, S., Koivisto, K., Tšenari, P., Sumelahti, M.L., Elovaara, I., Pirttilai T., Reunanen, M., Aromaa, A., Oturai, A.B., Sondergaard, H.B., Harbo, H.F., Mero, I.L., Gabriel, S.B., Mirel, D.B., Hauser, S.L., Kappos, L., Polman, C., De Jager, P.L., Hafler, D.A., Daly, M.J., Palotie, A., Saarela, J., Peltonen, L., 'Genome-wide association study in a highrisk isolate for multiple sclerosis reveals associated variants in STAT3 gene', *Am. J. Hum. Genet.*, 86, 285–291, (2010).

Jankowska-Lech, I., Terelak-Borys, B., Grabska-Liberek, I., Palasik, W., Bik, W., Wolińska-Witort, E., 'Decreased Endothelin-1 Plasma Levels in Multiple Sclerosis Patients: A Possible Factor of Vascular Dysregulation?', *Med. Sci. Monit.*, 21, 1066–1071, (2015).

Jares, P., Campo, E., Pinyol, M., Bosch, F., Miquel, R., Fernandez, P.L., Sanchez-Beato, M., Soler, F., Perez-Losada, A., Nayach, I., Mallofré, C., Piris, M.A., Montserrat, E., Cardesa, A., 'Expression of retinoblastoma gene product (pRb) in mantle cell lymphomas. Correlation with cyclin D1 (PRAD1/CCND1) mRNA levels and proliferative activity', *Am. J. Pathol.*, 148, 1591-600, (1996).

Jersild, C., Svejgaard, A., Fog, T., 'HL-A antigens and multiple sclerosis', *The Lancet*, 7762, 1240–1241, (1972).

Jia, J., Arif, A., Terenzi, F., Willard, B., Plow, E.F., Hazen, S.L., Fox, P.L., 'Target-selective protein S-nitrosylation by sequence motif recognition', *Cell*, 159, 623-34, (2014).

Jiang, H., Yu, J., Guo, H., Song, H., Chen, S., 'Upregulation of survivin by leptin/STAT3 signaling in MCF-7 cells', *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 368, 1-5, (2008).

Jin, S., Zhuo, Y., Guo, W., Field Jp21-activated Kinase 1 (Pak1)-dependent phosphorylation of Raf-1 regulates its mitochondrial localization, phosphorylation of BAD, and Bcl-2 association', *J. Biol. Chem.*, 280, 24698-705, (2005).

Johnson, K.P., Brooks, R., Cohen, J.A., Ford, C.C., Goldstein, J., Lisak, R.P. ve diğ., 'Copolymer I reduces relapse rate and improves disability in relapsingremitting

multiple sclerosis: results of a phase III, multicentre, double-blind, placebo-controlled trial', *Neurology*, 45, 1268-1276, (1995).

Josefowicz, S.Z., Lu, L.F., Rudensky, A.Y., 'Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function', *Annual Review of Immunology*, 30, 531-64, (2012).

Judge, S., Bever, C., 'Potassium channel blockers in multiple sclerosis: neuronal Kv channels and effects of symptomatic treatment', *Pharmacol. Ther.*, 111, 224-59, (2006).

Juneja, J., Casey, P.J., 'Role of G12 proteins in oncogenesis and metastasis', *Br. J. Pharmacol.*, 158, 32-40, (2009).

Kallaur, A.P., Oliveira, S.R., Simao, A.N.C., de Almeida, E.R.D., Morimoto, H.K., Alfieri, D.F., Pereira, W.L.C.J., Borelli, S.D., Kaimen-Maciel, D.R., Maes, M., Reiche, E.M.V., 'Tumor necrosis factor beta NcoI polymorphism is associated with inflammatory and metabolic markers in multiple sclerosis patients', *Journal of the Neurological Sciences*, 346, 156-163, (2014).

Kamenetz, F., Tomita, T., Hsieh, H., Seabrook, G., Borchelt, D., Iwatsubo, T., Sisodia, S., Malinow, R., 'APP processing and synaptic function', *Neuron.*, 37, 925-37, (2003).

Kameyoshi, Y., Dörschner, A., Mallet, A.I., Christophers, E., Schröder, J.M., 'Cytokine RANTES released by thrombin-stimulated platelets is a potent attractant for human eosinophils', *J. Exp. Med.*, 176, 587-92, (1992).

Kamphuis, W., Mamber, C., Moeton, M., Kooijman, L., Sluijs, J.A., Jansen, A.H., Verveer, M., de Groot, L.R., Smith, V.D., Rangarajan, S., Rodríguez, J.J., Orre, M., Hol, E.M., 'GFAP isoforms in adult mouse brain with a focus on neurogenic astrocytes and reactive astrogliosis in mouse models of Alzheimer disease', *PLoS One*, 7(8), e42823, (2012).

Kang, S., Hong, X., Ruan, C.W., Yu, P., Yu, S.S., Chen, M., Zhang, D.F., Fan, H.M., Liu, Z.M., 'Effects of GRK5 and ADRB1 polymorphisms influence on systolic heart failure', *J. Transl. Med.*, 1, 13-44, (2015).

Kantarci, O.H., 'Genetics and natural history of multiple sclerosis', *Seminars in Neurology*, 28, 7-16, (2008).

Kappos, L., Radue, E. W, O'Connor, P., Polman, C., Hohlfeld, R., Calabresi, P., Selmai, K., Agoropoulou, C., Leyk, M., Zhang-Auberson, L., Burtin, P., 'A placebo-controlled trial of oral FTY720 in relapsing multiple sclerosis', *New England Journal of Medicine*, 362, 387-401, (2010).

Kasaikina, M.V., Lobanov, A.V., Malinouski, M.Y., Lee, B.C., Seravalli, J., Fomenko, D.E., Turanov, A.A., Finney, L., Vogt, S., Park, T.J., Miller, R.A.,

Hatfield, D.L., Gladyshev, V.N., 'Reduced utilization of selenium by naked mole rats due to a specific in GPx1 expression', *J. Biol. Chem.*, 286, 17005-14, (2011).

Kawajiri M. , Mogi M. , Osoegawa M. , Matsuoka T. , Tsukuda K. , Kohara K. , Horiuchi M. , Miki T., Kira J.I., 'Reduction of angiotensin II in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis', *Multiple Sclerosis*; 14: 557–560, (2008).

Kawasaki, Y., Tsuji, S., Muroya, K., Furukawa, S., Shibata, Y., Okuno, M., Ohwada, S., Akiyama, T., 'The adenomatous polyposis coli-associated exchange factors Asef and Asef2 are required for adenoma formation in *Apc*^{Min/+} mice', *EMBO Rep.*, 10, 1355–1362, (2009).

Kierszenbaum, A.L., *Histology and Cell Biology An Introduction to Pathology*. Second edition. Canada: Elsevier, 85-104, (2007).

Kieseier, B.C., 'The mechanism of action of interferon- β in relapsing multiple sclerosis', *CNS Drugs*, 25, 491-502, (2011).

Kim, D.K., Yun, S., Son, G.H., Hwang, J.I., Park, C.R., Kim, J.I., Kim, K., Vaudry, H., Seong, J.Y., 'Coevolution of the spexin/galanin/kisspeptin family: Spexin activates galanin receptor type II and III', *Endocrinology*, 155, 1864-73, (2014).

Kim, I.Y., Kim, M.M., Kim, S.J., 'Transforming growth factor-beta: biology and clinical relevance', *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 38, 1–8, (2005)

Kimple, A.J., Soundararajan, M., Hutsell, S.Q., Roos, A.K., Urban, D.J., Setola, V., Temple, B.R., Roth, B.L., Knapp, S., Willard, F.S., Siderovski, D.P., 'Structural determinants of G-protein alpha subunit selectivity by regulator of G-protein signaling 2 (RGS2)', *J. Biol. Chem.*, 284, 19402-11, (2009).

Kitamura, K., Sakata, J., Kangawa, K., Kojima, M., Matsuo, H., Eto, T., 'Cloning and characterization of cDNA encoding a precursor for human adrenomedullin', *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 194, 720-5, (1993).

Kitamura, T., Kitamura, Y., Kuroda, S., Hino, Y., Ando, M., Kotani, K., Konishi, H., Matsuzaki, H., Kikkawa, U., Ogawa, W., Kasuga, M., 'Insulin-Induced Phosphorylation and Activation of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase 3B by the Serine-Threonine Kinase', *Akt. Mol. Cell Biol.*, 19, 6286–6296, (1999).

Klomp, L.W., de Koning, T.J., Malingré, H.E., van Beurden, E.A., Brink, M., Opdam, F.L., Duran, M., Jaeken, J., Pineda, M., Van Maldergem, L., Poll-The, B.T., van den Berg, I.E., Berger, R., 'Molecular characterization of 3-phosphoglycerate dehydrogenase deficiency a neurometabolic disorder associated with reduced L-serine biosynthesis', *Am. J. Hum. Genet.*, 67, 1389-99, (2000).

Kobashi, G., Ohta, K., Yamada, H., Hata, A., Minakami, H., Sakuragi, N., Tamashiro, H., Fujimoto, S., '4G/5G Variant of Plasminogen Activator Inhibitor-1 Gene and Severe Pregnancy-Induced Hypertension: Subgroup Analyses

of Variants of Angiotensinogen and Endothelial Nitric Oxide Synthase', *J. Epidemiol.*, 19, 275–280, (2009).

Kondo, M., Das, G., Imai, R., Santana, E., Nakashita, T., Imawaka, M., Ueda, K., Ohtsuka, H., Sakai, K., Aihara, T., Kato, K., Sugimoto, M., Ueno, S., Nishizawa, Y., Aguirre, G.D., Miyadera, K., 'A Naturally Occurring Canine Model of Autosomal Recessive Congenital Stationary Night Blindness', *PLoS One*, 10(9), e0137072, (2015).

Kote-Jarai, Z., Durocher, F., Edwards, S.M., Hamoudi, R., Jackson, R.A., Ardern-Jones, A., Murkin, A., Dearnaley, D.P., Kirby, R., Houlston, R., Easton, D.F., Eeles, R., 'CRC/BPG UK Familial Prostrate Cancer Collaborators. Association between the GCG polymorphism of the selenium dependent GPX1 gene and the risk of young onset prostate cancer', *Prostate Cancer Prostatic Dis.*, 5, 189-92, (2002).

Kovacina, K.S., Park, G.Y., Bae, S.S., Guzzetta, A.W., Schaefer, E., Birnbaum, M.J., Roth, R.A., 'Identification of a proline-rich Akt substrate as a 14-3-3 binding partner', *J. Biol. Chem.*, 278, 10189-94, (2003).

Kovarik, J.M., Hartmann, S., Bartlett, M. et al., 'Oral-intravenous crossover study of FTY720 pharmacokinetics, lymphocyte responses and cardiac effects', *Biopharm Drug Dispos*, 28, 97-104, (2007).

Kranenburg, O., Moolenaar, W.H., 'Ras-MAP kinase signaling by lysophosphatidic acid and other G protein-coupled receptor agonists', *Oncogene*, 20,1540-6, (2001).

Krieg, J., Hunter, T., 'Identification of the two major epidermal growth factor-induced tyrosine phosphorylation sites in the microvillar core protein ezrin', *J. Biol. Chem.*, 267, 19258-65, (1992).

Kristóf, E., Zahuczky, G., Katona, K., Doró, Z., Nagy, É., Fésüs, L., 'Novel role of ICAM3 and LFA-1 in the clearance of apoptotic neutrophils by human macrophages', *Apoptosis*, 18, 1235-51, (2013).

Krumbholz, M., Meinl, E., 'B cells in MS and NMO: pathogenesis and therapy', *Seminars in Immunopathology*, 36, 339-350, (2014).

Kuerten, S., Pauly, R., Rottlaender, A., Rodi, M., Gruppe, T.L., Addicks, K., Tary-Lehmann, M., Lehmann, P.V., 'Myelin-reactive antibodies mediate the pathology of MBP-PLP fusion protein MP4-induced EAE', *Clin Immunol.*, 140, 54-62, (2011).

Kukkonen, J.P., Nasman, J.A., Kerman, K.E., 'Modeling of promiscuous receptor Gi/Gs protein coupling and effector response' *Trends in Pharmacological Sciences*, 22, 616-622, (2001).

Kułałowska, A., Drozdowski, W., ‘Does interferon beta therapy affect survival of multiple sclerosis patients?’, *Neurologia Neurochirurgia Polska*, 48, 436-441, (2014).

Kumar S., Patel R., Moore S., Crawford D.K., Suwanna N., Mangiardi M., Tiwari-Woodruff S.K., ‘Estrogen receptor β ligand therapy activates PI3K/Akt/mTOR signaling in oligodendrocytes and promotes remyelination in a mouse model of multiple sclerosis’, *Neurobiol Dis.*, 56, 131-44, (2013).

Kwong, P.D., Wyatt, R., Robinson, J., Sweet, R.W., Sodroski, J., Hendrickson, W.A., ‘Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody’, *Nature*, 393, 648-59, (1998).

Laich, A., Meyer, M., Werner, E.R., Werner-Felmayer, G., ‘Structure and expression of the human small cytokine B subfamily member 11 (SCYB11/formerly SCYB9B, alias I-TAC) gene cloned from IFN-gamma-treated human monocytes (THP-1)’, *J. Interferon Cytokine Res.*, 19, 505-13, (1999).

Lasagni, L., Francalanci, M., Annunziato, F., Lazzeri, E., Giannini, S., Cosmi, L., Sagrinati, C., Mazzinghi, B., Orlando, C., Maggi, E., Marra, F., Romagnani, S., Serio, M., Romagnani, P., ‘An alternatively spliced variant of CXCR3 mediates the inhibition of endothelial cell growth induced by IP-10, Mig, and I-TAC, and acts as functional receptor for platelet factor 4’, *J. Exp. Med.*, 197, 1537-49, (2003).

Lee, D. H., Linker, R. A., Gold, R., ‘Spotlight on fumarates’, *International MS Journal*, 15, 12–18, (2008).

Lenk, H., Muller, U., Tanneberger, S., ‘Mitoxantrone: mechanism of action, antitumor activity, pharmacokinetics, efficacy in the treatment of solid tumors and lymphomas, and toxicity’, *Anticancer Research*, 7, 1257–1264, (1987).

Leung, K.T., Chan, K.Y., Ng, P.C., Lau, T.K., Chiu, W.M., Tsang, K.S., Li, C.K., Kong, C.K., Li, K., ‘The tetraspanin CD9 regulates migration, adhesion, and homing of human cord blood CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells’, *Blood*, 117, 1840-50, (2011).

Levy, Y., Ferman, J.P., Navarro, S., Schmitt, C., Vainchenker, W., Seligmann, M., Brouet, J.C., ‘Interleukin 6 dependence of spontaneous in vitro differentiation of B cells from patients with IgM gammopathy’, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87, 3309–3313, (1990).

Li, B., Samanta, A., Song, X., Iacono, K.T., Bembas, K., Tao, R., Basu, S., Riley, J.L., Hancock, W.W., Shen, Y., Saouaf, S.J., Greene, M.I., ‘FOXP3 interactions with histone acetyltransferase and class II histone deacetylases are required for repression’, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 104, 4571-6, (2007).

Liliemark, J., 'The clinical pharmacokinetics of cladribine', *Clin. Pharmacokinet*, 32, 120–131, (1997).

Lill, C.M., Schjeide, B.M., Akkad, D.A., Blaschke, P., Winkelmann, A., Gerdes, L.A., Hoffjan, S., Luessi, F., Dörner, T., Li, S.C., Steinhagen-Thiessen, E., Lindenberger, U., Chan, A., Hartung, H.P., Aktas, O., Lohse, P., Kümpfel, T., Kubisch, C., Epplen, J.T., Zettl, U.K., Bertram, L., Zipp, F., 'Independent replication of STAT3 association with multiple sclerosis risk in a large German case-control sample', *Neurogenetics*, 13, 83-86, (2012).

Lim, J.K., Burns, J.M., Lu, W., DeVico, A.L., 'Multiple pathways of amino terminal processing produce two truncated variants of RANTES/CCL5', *J. Leukoc. Biol.*, 78, 442-52, (2005).

Lindhurst, M.J., Sapp, J.C., Teer, J.K., Johnston, J.J., Finn, E.M., Peters, K., Turner, J., Cannons, J.L., Bick, D., Blakemore, L., Blumhorst, C., Brockmann, K., Calder, P., Cherman, N., Dearnorff, M.A., Everman, D.B., Golas, G., Greenstein, R.M., Kato, B.M., Keppler-Noreuil, K.M., Kuznetsov, S.A., Miyamoto, R.T., Newman, K., Ng, D., O'Brien, K., Rothenberg, S., Schwartzentruber, D.J., Singhal, V., Tirabosco, R., Upton, J., Wientroub, S., Zackai, E.H., Hoag, K., Whitewood-Neal, T., Robey, P.G., Schwartzberg, P.L., Darling, T.N., Tosi, L.L., Mullikin, J.C., Biesecker, L.G., 'A mosaic activating mutation in AKT1 associated with the Proteus syndrome', *N. Engl. J. Med.*, 365, 611-9, (2011).

Lindwasser, O.W., Chaudhuri, R., Bonifacino, J.S., 'Mechanisms of CD4 downregulation by the Nef and Vpu proteins of primate immunodeficiency viruses', *Curr. Mol. Med.*, 7, 171-84, (2007).

Liu X., Zhu X., 'Roles of p53, c-Myc, Bcl-2, Bax and caspases in glutamate-induced neuronal apoptosis and the possible neuroprotective mechanism of basic fibroblast growth factor', *Molecular Brain Research*, 2, 210–216, (1999).

Liu, B., Hassan, Z., Amisten, S., King, A.J., Bowe, J.E., Huang, G.C., Jones, P.M., Persaud, S.J., 'The novel chemokine receptor, G-protein-coupled receptor 75, is expressed by islets and is coupled to stimulation of insulin secretion and improved glucose homeostasis', *Diabetologia*, 56, 2467-76, (2013).

Liuzzi, G.M., Trojano, M., Fanelli, M., 'Intrathecal synthesis of matrix metalloproteinase-9 in patients with multiple sclerosis: implication for pathogenesis', *Mult. Scler.*, 8, 222–28, (2002).

Lock, C., Hermans, G., Pedotti, R., Brendolan, A., Schadt, E., Garren, H., Langer-Gould A., Strober, S., Cannella, B., Allard, J., Klonowski, P., Austin, A., Lad, N., Kaminski, N., Galli, S.J., Oksenberg, J.R., Raine, C.S., Heller, R., Steinman, L., 'Gene microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis', *Nat. Med.*, 8, 500-8, (2002).

- Lopez, E., Racadot, E., Bataillard, M., Berger, E., Rumbach, L., 'Interferon gamma, IL2, IL4, IL10 and TNFalpha secretions in multiple sclerosis patients treated with an anti-CD4 monoclonal antibody', *Autoimmunity*, 29, 87-92, (1999).
- Losy, J., Niezgoda, A., 'IL-18 in patient with multiple sclerosis', *Acta Neurol. Scand*, 104, 171-3, (2011).
- Lusso, P., Secchiero, P., Crowley, R.W., Garzino-Demo, A., Berneman, Z.N., Gallo, R.C., 'CD4 is a critical component of the receptor for human herpesvirus 7: interference with human immunodeficiency virus', *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91, 3872-6, (1994).
- Lycke, J., 'Monoclonal antibody therapies for the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis: differentiating mechanisms and clinical outcomes', *Ther Adv Neurol Disord.*, 8, 274-93, (2015).
- Lynch J.L; Alley J.F., Wellman L., Beitz A.J., 'Decreased spinal cord opioid receptor mRNA expression and antinociception in a Theiler's murine encephalomyelitis virus model of multiple sclerosis.', *Brain Res.*, 1191, 180-91, (2008).
- Maghzi, A.H., Minagar, A., 'IL1- β expression in multiple sclerosis', *J. Neurol. Sci.*, 15, 343- 1, (2014).
- Maier, H., Wang-Eckhardt, L., Hartmann, D., Gieselmann, V., Eckhardt, M., 'N-Acetylaspartate Synthase Deficiency Corrects the Myelin Phenotype in a Canavan Disease Mouse Model But Does Not Affect Survival Time', *J. Neurosci.*, 35, 14501-16, (2015).
- Marie, J.C., Liggitt, D., Rudensky, A.Y., 'Cellular mechanisms of fatal early-onset autoimmunity in mice with the T cell-specific targeting of transforming growth factor-beta receptor', *Immunity*, 25, 399-401, (2006).
- Marinissen, M.J. and Gutkind, J.S., 'G-protein-coupled receptors and signaling networks: emerging paradigms', *Trends Pharmacol Sci.*, 22, 368-376, (2001).
- Marlin, S.D., Staunton, D.E., Springer, T.A., Stratowa, C., Sommergruber, W., Merluzzi, V.J., 'A soluble form of intercellular adhesion molecule-1 inhibits rhinovirus infection', *Nature*, 344, 70-2, (1990).
- Martelli, A.M., Nyakern, M., Tabellini, G., Bortul, R., Tazzari, P.L., Evangelisti, C., Cocco, L., 'Phosphoinositide 3-kinase/Akt signaling pathway and its therapeutical implications for human acute myeloid leukemia', *Leukemia*, 20, 911-28, (2006).
- Martinelli, V., Radaelli, M., Straffi, L., Rodegher, M., Comi, G., 'Mitoxantrone: benefits and risks in multiple sclerosis patients', *Neurological Sciences*, 30, 167-170, (2009).

Martinez-Arguelles, D.B., Guichard, T., Culty, M., Zirkin, B.R., Papadopoulos, V., 'In Utero Exposure to the Antiandrogen Di-(2-Ethylhexyl) Phthalate Decreases Adrenal Aldosterone Production in the Adult Rat', *Biol. Reprod.*, 85, 51–61, (2011).

Massberg, S., vonAndrian, U.H., 'FTY720 and sphingosine-1-phosphate modifiers of lymphocyte migration', *The New England Journal of Medicine*, 355, 1088-1091, (2006).

Maung, R., Hoefler, M.M., Sanchez, A.B., Sejbuk, N.E., Medders, K.E, Desai, M.K., Catalan, I.C., Dowling, C.C., de Rozieres, C.M., Garden, G.A., Russo, R., Roberts, A.J., Williams, R., Kaul, M., 'CCR5 knockout prevents neuronal injury and behavioral impairment induced in a transgenic mouse model by a CXCR4-using HIV-1 glycoprotein 120', *J. Immunol.*, 193, 1895-910, (2014).

McClintick, J.N., McBride, W.J., Bell, R.L., Ding, Z.M., Liu, Y., Xuei, X., Edenberg, H.J., 'Gene Expression Changes in Glutamate and GABA-A Receptors, Neuropeptides, Ion Channels, and Cholesterol Synthesis in the Periaqueductal Gray Following Binge-Like Alcohol Drinking by Adolescent Alcohol-Preferring (P) Rats', *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 40, 955-68, (2016).

McLaughlin, N.J., Banerjee, A., Kelher, M.R., Gamboni-Robertson, F., Hamiel, C., Sheppard, F.R., Moore, E.E., Silliman, C.C., 'Platelet-activating factor-induced clathrin-mediated endocytosis requires beta-arrestin-1 recruitment and activation of the p38 MAPK signalosome at the plasma membrane for actin bundle formation', *J. Immunol.* 176, 7039-50, (2006).

McNally, M.A., Baek, R.C., Avila, R.L., Seyfried, T.N., Strichartz, G.R., Kirschner, D.A., 'Peripheral nervous system manifestations in a Sandhoff disease mouse model: nerve conduction, myelin structure, lipid analysis', *J. Negat Results Biomed.*, 10, 6-8, (2007).

McQualter, J.L., Darwiche, R., Ewing, C., Onuki, M., Kay, T.W., Hamilton, J.A., Reid, H.H., Bernard, C.C.A., 'Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor', *J. Exp. Med.*, 194, 873–882, (2001).

Mehling, M., Johnson, T.A., Antel, J., Kappos, L., Bar-Or, A., 'Clinical immunology of the sphingosine 1-phosphate receptor modulator FTY720 (FTY720) in multiple sclerosis', *Neurology*, 76, 20-27, (2011).

Mehling, M., Kappos, L., Derfuss, T., 'FTY720 for multiple sclerosis: mechanism of action, clinical outcomes and future directions', *Curr Neurol Neurosci Rep.*, 11, 492-7, (2011).

Meinl, E., Hohlfeld, R., 'Immunopathogenesis of multiple sclerosis: MBP and beyond', *Clin. Exp. Immunol.*, 128, 395–397, (2002).

Metra, M., Covolo, L., Pezzali, N., Zacà, V., Bugatti, S., Lombardi, C., Bettari, L., Romeo, A., Gelatti, U., Giubbini, R., Donato, F., Dei Cas, L., 'Role of beta-adrenergic receptor gene polymorphisms in the long-term effects of beta-blockade with carvedilol in patients with chronic heart failure', *Cardiovasc. Drugs Ther.*, 24, 49-60, (2010).

Mikita, J., Dubourdieu-Cassagno, N., Deloire, M.S., Vekris, A., Biran, M., Raffard, G., Brochet, B., Canron, M.H., Franconi, J.M., Boiziau, C., Petry, K.G., 'Altered M1/M2 activation patterns of monocytes in severe relapsing experimental rat model of multiple sclerosis. Amelioration of clinical status by M2 activated monocyte administration', *Multiple Sclerosis*, 17, 2–15, (2011).

Mikol, D.D., Barkhof, F., Chang, P., Coyle, P.K., Jeffery, D.R., Schwid, S.R., Stubinski, B., Uitdehaag, B., 'Comparison of subcutaneous interferon beta-1a with glatiramer acetate in patients with relapsing multiple sclerosis (the REbif vs Glatiramer Acetate in Relapsing MS Disease [REGARD] study): a multicentre, randomised, parallel, open-label trial', *Lancet Neurol.*, 7, 903-14, (2008).

Mikolajczak, S.A., Ma, B.Y., Yoshida, T., Yoshida, R., Kelvin, D.J., Ochi, A., 'The modulation of CD40 ligand signaling by transmembrane CD28 splice variant in human T cells', *J. Exp. Med.* 199, 1025-31, (2004).

Miller, A.E., O'Connor, P., Wolinsky, J.S., Confavreux, C., Kappos, L., Olsson, T.P., Truffinet, P., Wang, L., D'Castro, L., Comi, G., Freedman, M.S., 'Pre-specified subgroup analyses of a placebo-controlled phase III trial (TEMPO) of oral teriflunomide in relapsing multiple sclerosis', *Multiple Sclerosis Journal*, 18, 1625-1632, (2012).

Milo, R., 'The efficacy and safety of daclizumab and its potential role in the treatment of multiple sclerosis', *Ther Adv Neurol Disord.*, 7(1), 7–21, (2014).

Miron, V.E., Jung, C.G., Kim, H.J. et al., 'FTY720 modulates human oligodendrocyte progenitor process extension and survival', *Ann. Neurol.*, 63, 61-71, (2008).

Mirshafiey, A., Mohsenzadegan, A., 'TGF- β as a promising option in the treatment of multiple sclerosis', *Neuropharmacology*, 56, 929-936, (2009).

Mishra, P.K., Givvimani, S., Metreveli, N., Tyagi, S.C., 'Attenuation of beta 2-adrenergic receptors and homocysteine metabolic enzymes cause diabetic cardiomyopathy', *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 401, 175–181, (2010).

Mohan H., Krumbholz, M., Sharma, R., Eisele, S., Junker, A., Sixt, M., Newcombe, J., Wekerle, H., Hohlfeld, R., Lassmann, H., Meinl, E., 'Extracellular matrix in multiple sclerosis lesions: Fibrillar collagens, biglycan and decorin are upregulated and associated with infiltrating immune cells', *Brain Pathol.*, 20, 966-75, (2010).

- Moharreg, D., Khiabani, R.A., Linker, R., Gold, Stangel, M., 'Fumaric acid and its esters: an emerging treatment for multiple sclerosis', *Current Neuropharmacology*, 7, 60–64, (2009).
- Moldovan, I.R., Rudick, R.A., Cotleur, A.C., Born, S.E., Lee, J.C., Karafa, M.T., Pelfrey, C.M., 'Interferon gamma responses to myelin peptides in multiple sclerosis correlate with a new clinical measure of disease progression', *Journal of Neuroimmunology*, 141, 132-140, (2003).
- Mori, S., Tran, V., Nishikawa, K., Kaneda, T., Hamada, Y., Kawaguchi, N., Fujita, M., Saegusa, J., Takada, Y.K., Matsuura, N., Zhao, M., Takada, Y., 'A dominant-negative FGF1 mutant (the R50E mutant) suppresses tumorigenesis and angiogenesis', *PLoS One*, 8(2), e57927, (2013).
- Mozaffari, M.S., Liu, J.Y., Schaffer, S.W., 'Effect of pressure overload on cardioprotection via PI3K-Akt: comparison of postconditioning, insulin, and pressure unloading', *Am. J. Hypertens.*, 23, 668-74, (2010).
- Multhaup, G., Huber, O., Buée, L., Galas, M.C., 'Amyloid Precursor Protein (APP) Metabolites APP Intracellular Fragment (AICD), A β 42, and Tau in Nuclear Roles', *The Journal of Biological Chemistry*, 290, 23515-23522, (2015).
- Mycko, M.P., Papoian, R., Boschert, U., Raine, C.S., Selmaj, K.W., 'cDNA microarray analysis in multiple sclerosis lesions: detection of genes associated with disease activity', *Brain*, 126, 1048-5, (2003).
- Nadeau, V., Charron, J., 'Essential role of the ERK/MAPK pathway in blood-placental barrier formation', *Development*, 141, 2825-372014, (2014).
- Naga Prasad, S.V., Jayatilleke, A., Madamanchi, A., Rockman, H.A., 'Protein kinase activity of phosphoinositide 3-kinase regulates beta-adrenergic receptor endocytosis', *Nat. Cell Biol.*, 7, 785-96, (2005).
- Nakahara, J., Takemura, M., Gomi, H., Tsunematsu, K., Itohara, S., Asou, H., Ogawa, M., Aiso, S., Tan-Takeuchi, K., 'Role of radial fibers in controlling the onset of myelination', *Journal of Neuroscience Research*, 72, 279-289, (2003).
- Neuhaus, O., Farina, C., Wekerle, H., Hohlfeld, R., 'Mechanisms of action of glatiramer acetate in multiple sclerosis', *Neurology*, 56, 702-708, (2001).
- Newcombe J., Uddin A., Dove R., Patel B., Turski L., Nishizawa Y., Smith T., 'Glutamate receptor expression in multiple sclerosis lesions', *Brain Pathol.*, 18, 52-61, (2008).
- Nguyen, C.H., Ming, H., Zhao, P., Hugendubler, L., Gros, R., Kimball, S.R., Chidiac, P., 'Translational control by RGS2', *J. Cell Biol.*, 186, 755-65, (2009).

Nioche, P., Liu, W.Q., Broutin, I., Charbonnier, F., Latreille, M.T., Vidal, M., Roques, B., Garbay, C., Ducruix, A., 'Crystal structures of the SH2 domain of Grb2: highlight on the binding of a new high-affinity inhibitor', *J. Mol. Biol.*, 315, 1167-77, (2002).

Noda, S., Takahashi, A., Hayashi, T., Tanuma, S., Hatakeyama, M., 'Determination of the catalytic activity of LEOPARD syndrome-associated SHP2 mutants toward parafibromin, a bona fide SHP2 substrate involved in Wnt signaling', *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 469, 1133-9, (2015).

Noronha, A., Toscas, A., Jensen, M.A., 'Interferon beta decreases T cell activation and interferon gamma production in multiple sclerosis', *J. Neuroimmunol.*, 46, 145-53, (1993).

Noseworthy, J.H., Lucchinetti, C.F., Rodriguez, M., Weinshenker, B.G., 'Multiple sclerosis' *N. Engl. J. Med.*, 343, 938-52, (2000).

O'Brien, R.J., Wong, P.C., 'Amyloid Precursor Protein Processing and Alzheimer's Disease', *Annu. Rev. Neurosci.*, 34, 185-204, (2011).

O'Connor, P. W., Goodman, A., Kappos, L., Lublin, F. D., Miller, D. H., Polman, C., Rudick, R.A., Aschenbach, W., Lucas, N., 'Disease activity return during natalizumab treatment interruption in patients with multiple sclerosis', *Neurology*, 78, 1858-1865, (2011).

O'Connor, P., Filippi, M., Arnason, B., Comi, G., Cook, S., Goodin, D., Hartung, H.P., Jeffery, D., Kappos, L., Boateng, F., Filippov, V., Groth, M., Knappertz, V., Kraus, C., Sandbrink, R., Pohl, C., Bogumil, T., '250 microg or 500 microg interferon beta-1b versus 20 mg glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis: a prospective, randomised, multicentre study', *Lancet Neurol.*, 8, 889-97, (2009).

Oguma, T., Palmer, L.J., Birben, E., Sonna, L.A., Asano, K., Lilly, C.M., 'Role of prostanoid DP receptor variants in susceptibility to asthma', *N. Engl. J. Med.*, 351, 1752-63, (2004).

Oh, Y.T., Yue, P., Zhou, W., Balko, J.M., Black, E.P., Owonikoko, T.K., Khuri, F.R., Sun, S.Y., 'Oncogenic Ras and B-Raf proteins positively regulate death receptor 5 expression through co-activation of ERK and JNK signaling', *J. Biol. Chem.*, 287, 257-67, (2012).

Okada, H., Inoue, T., Kikuta, T., Watanabe, Y., Kanno, Y., Ban, S., Sugaya, T., Horiuchi, M., Suzuki, H., 'A Possible Anti-Inflammatory Role of Angiotensin II Type 2 Receptor in Immune-Mediated Glomerulonephritis during Type 1 Receptor Blockade' *Am. J. Pathol.*, 169, 1577-1589, (2006).

Okamoto, T., 'NF-kappaB and rheumatic diseases', *Endocrine Metabolic Immune Disorders Drug Targets*, 6, 359-72, (2006).

Oksenberg, J.R., Barcellos, L.F., Cree, B.A., Baranzini, S.E., Bugawan, T.L., Khan, O., Lincoln, R.R., Swerdlin, A., Mignot E., Lin, L., Goodin, D., Erlich H.A., Schmidt, S., Thomson, G., Reich, D.E., Pericak-Vance, M.A., Haines, J.L., Hauser S.L., 'Mapping multiple sclerosis susceptibility to the HLA-DR locus in African Americans', *The American Journal of Human Genetics*, 74, 160–167, (2004).

Oldham, W.M., Hamm, H.E., 'Structural basis of function in heterotrimeric G proteins', *Quarterly Reviews of Biophysics*, 39, 117-166, (2006).

Ong, K.L., Tso, A.W., Leung, R.Y., Cherny, S.S., Sham, P.C., Lam, T.H., Cheung, B.M., Lam, K.S., 'A genetic variant in the gene encoding adrenomedullin predicts the development of dysglycemia over 6.4 years in Chinese', *Clin. Chim. Acta.*, 412, 353-7, (2011).

Ono, M., Yaguchi, H., Ohkura, N., Kitabayashi, I., Nagamura, Y., Nomura, T., Miyachi, Y., Tsukada, T., Sakaguchi, S., 'Foxp3 controls regulatory T-cell function by interacting with AML1/Runx1', *Nature*, 446, 685-9, (2007).

O'Shea, J.J., Plenge, R., 'JAK and STAT signaling molecules in immunoregulation and immune-mediated disease', *Immunity*, 36, 542-550, (2012).

Ostermann, G., Weber, K.S., Zerneck, A., Schröder, A., Weber, C., 'JAM-1 is a ligand of the beta(2) integrin LFA-1 involved in transendothelial migration of leukocytes', *Nat. Immunol.*, 3, 151-8, (2002).

Ozenci, V., Kouwenhoven, Y.M., Huang, B.G., Xiao, P., Kivisa, P., Fredrikson, S., Link, H., 'Multiple Sclerosis: Levels of Interleukin-10-Secreting Blood Mononuclear Cells are Low in Untreated Patients but Augmented During Interferon-b-1b Treatment', *Scand. J. Immunol.*, 49, 554–561, (1999).

Ozenci, V., Kouwenhoven, M., Teleshova, N., Pashenkov, M., Fredrikson, S., Link, H., 'Multiple sclerosis: pro- and anti-inflammatory cytokines and metalloproteinases are affected differentially by treatment with IFN-beta', *J. Neuroimmunol.*, 108, 236-43, (2000).

Ozgun-Acar, O., Celik-Turgut, G., Gazioglu, I., Kolak, U., Ozbal, S., Ergur, B., Arslan, S., Sen, A., Topcu, G., 'Capparis ovata treatment suppresses inflammatory cytokine expression and ameliorates experimental allergic encephalomyelitis model of multiple sclerosis in C57BL/6 mice', *Journal of Neuroimmunology*, 298, 106-16, (2016).

Pak, Y., Pham, N., Rotin, D., 'Direct binding of the beta1 adrenergic receptor to the cyclic AMP-dependent guanine nucleotide exchange factor CNrasGEF leads to Ras activation', *Mol. Cell Biol.*, 22, 7942-52, (2002).

Pandit, J., Bohm, A., Jancarik, J., Halenbeck, R., Koths, K., Kim, S.H., 'Three-dimensional structure of dimeric human recombinant macrophage colony-stimulating factor', *Science*, 258, 1358-62, (1992).

Papadopoulou N.G., Oleson L., Kempuraj D., Donelan J., Cetrulo C.L., Theoharides T.C., 'Regulation of corticotropin-releasing hormone receptor-2 expression in human cord blood-derived cultured mast cells', *Journal of Molecular Endocrinology*, 35, 1-8, (2005).

Park, E., Lee, G.J., Choi, S., Choi, S.K., Chae, S.J., Kang, S.W., Pak, Y.K., Park, H.K., 'The role of glutamate release on voltage-dependent anion channels (VDAC)-mediated apoptosis in an eleven vessel occlusion model in rats', *PLoS One*, 5(12), e15192, (2010).

Passtoors, W.M., Beekman, M. Deelen, J., van der Breggen, R., Maier, A.B., Guigas, B., Derhovanessian, E., van Heemst, D., de Craen, A.J.M., Gunn, D.A., Pawelec, G., Slagboom, P.E., 'Gene expression analysis of mTOR pathway: association with human longevity', *Aging Cell*, 12, 24-31, (2013).

Patel, J.K., Clifford, R.L., Deacon, K., Knox, A.J., 'Ciclesonide inhibits TNF α - and IL-1 β -induced monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1/CCL2) secretion from human airway smooth muscle cells', *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 302, 785-92, (2012).

Paty, D.W., Li, D.K., 'Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis II. MRI analysis results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial', *Neurology*, 43, 662-667, (1993).

Pedemonte, E., Mancardi, G., Giunti, D., Corcione, A., Benvenuto, F., Pistoia, V., Uccelli, A., 'Mechanisms of the adaptive immune response inside the central nervous system during inflammatory and autoimmune diseases', *Pharmacology & Therapeutics*, 111, 555-566, (2006).

Peng, Y., Xue, H., Luo, L., Yao, W., Li, R., 'Polymorphisms of the b1-adrenergic receptor gene are associated with essential hypertension in Chinese', *Clin. Chem. Lab. Med.*, 47, 1227-1231, (2009).

Peters, V.A., Joesting, J.J., Freund, G.G., 'IL-1 receptor 2 (IL-1R2) and its role in immune regulation', *Brain Behav. Immun.*, 32, 1-8, (2013).

Petersen, M., Andersen, J.T., Jimenez-Solem, E., Broedbaek, K., Afzal, S., Nyegaard, M., Børghlum, A.D., Stender, S., Torp-Pedersen, C., Køber, L., Poulsen, H.E., 'Effect of specific ADRB1/ADRB2/AGT genotype combinations on the association between survival and carvedilol treatment in chronic heart failure: a substudy of the ECHOS trial', *Pharmacogenet Genomics*, 22, 709-15, (2012).

- Peterson, J.W., Bö, L., Mörk, S., Chang, A., Ransohoff, R. M., Trapp, B.D., 'VCAM-1-positive microglia target oligodendrocytes at the border of multiple sclerosis lesions', *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 61, 539-546, (2002).
- Pickel, L., Matsuzuka, T., Doi, C., Ayuzawa, R., Maurya, D.K., Xie, S.X., Berkland, C., Tamura, M., 'Over-expression of angiotensin II type 2 receptor gene induces cell death in lung adenocarcinoma cells', *Cancer Biol. Ther.*, 9, 277-285, (2010).
- Ponti, D., Bellenchi, G.C., Puca, R., Bastianelli, D., Maroder, M., Ragona, G., Roussel, P., Thiry, M., Mercola, D., Calogero, A., 'The transcription factor EGR1 localizes to the nucleolus and is linked to suppression of ribosomal precursor synthesis', *PLoS One*, 9(5), e96037, (2014).
- Poon, G.F., Dong, Y., Marshall, K.C., Arif, A., Deeg, C.M., Dosanjh, M., Johnson, P., 'Hyaluronan Binding Identifies a Functionally Distinct Alveolar Macrophage-like Population in Bone Marrow-Derived Dendritic Cell Cultures', *J. Immunol.*, 195, 632-42, (2015).
- Probert, L., 'TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects', *Neuroscience*, 302, 2-22, (2015).
- Proost, P., De Meester, I., Schols, D., Struyf, S., Lambeir, A.M., Wuyts, A., Opdenakker, G., De Clercq, E., Scharpé, S., Van Damme, J., 'Amino-terminal truncation of chemokines by CD26/dipeptidyl-peptidase IV. Conversion of RANTES into a potent inhibitor of monocyte chemotaxis and HIV-1-infection', *J. Biol. Chem.*, 273, 7222-7, (1998).
- Pucci, E., Giuliani, G., Solari, A., Simi, S., Minozzi, S., Di Pietrantonj, C., Galea, I., 'Natalizumab for relapsing remitting multiple sclerosis', *Cochrane Database Syst. Rev.*, 10, 76-21, (2011).
- Quarles, R.H., 'Myelin sheaths: glycoproteins involved in their formation, maintenance and degeneration', *Cell Mol. Life Sci.*, 59, 1851-71, (2002).
- Quarles, R.H., 'Myelin-associated glycoprotein (MAG): past, present and beyond', *Journal of Neurochemistry*, 100,1431-1448, (2007).
- Quarles, R.H., 'Myelin-associated glycoprotein in demyelinating disorders', *Critical Reviews in Neurobiology*, 5, 1-28, (1989).
- Rangel-Barajas C., Coronel I , Florán B., 'Dopamine Receptors and Neurodegeneration', *Aging and Disease*, 349-368, (2015).
- Ransohoff, R.M., 'Turning over the Chance card on MS susceptibility', *Nature Immunology*, 11, 570-572, (2010).

Raskovalova, T., Huang, X., Sitkovsky, M., Zacharia, L.C., Jackson, E.K., Gorelik, E., 'Gs protein-coupled adenosine receptor signaling and lytic function of activated NK cells' *J. Immunol.*, 175, 4383-91, (2005).

Ravichandran, L.V., Chen, H., Li, Y., Quon, M.J., 'Phosphorylation of PTP1B at Ser(50) by Akt impairs its ability to dephosphorylate the insulin receptor', *Mol. Endocrinol.*, 15, 1768-80, (2001).

Redonnet-Vernhet, I., Mahuran, D.J., Salvayre, R., Dubas, F., Levade, T., 'Significance of two point mutations present in each HEXB allele of patients with adult GM2 gangliosidosis (Sandhoff disease) homozygosity for the Ile207-->Val substitution is not associated with a clinical or biochemical phenotype', *Biochim. Biophys. Acta.*, 1317, 127-33, (1996).

Rétey, J.V., Adam, M., Khatami, R., Luhmann, U.F., Jung, H.H., Berger, W., Landolt, H.P., 'A genetic variation in the adenosine A2A receptor gene (ADORA2A) contributes to individual sensitivity to caffeine effects on sleep', *Clin. Pharmacol. Ther.*, 81, 692-8, (2007).

Rhodes, D.R., Ateeq, B., Cao, Q., Tomlins, S.A., Mehra, R., Laxman, B., Kalyana-Sundaram, S., Lonigro, R.J., Helgeson, B.E., Bhojani, M.S., Rehemtulla, A., Kleer, C.G., Hayes, D.F., Lucas, P.C., Varambally, S., Chinnaiyan, A.M., 'AGTR1 overexpression defines a subset of breast cancer and confers sensitivity to losartan, an AGTR1 antagonist', *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 106, 10284–10289, (2009).

Ribas, V., Carmen García-Ruiz, C., Fernández-Checa, J.C. 'Glutathione and mitochondria', *Front Pharmacol.*, 5, 151, (2014).

Riksen, N.P., Franke, B., van den Broek, P., Smits, P., Rongen, G.A., 'The 1976C>T polymorphism in the adenosine A2A receptor gene does not affect the vasodilator response to adenosine in humans in vivo', *Pharmacogenet Genomics*, 17, 551-4, (2007).

Rodi, M., Dimisianos, N., Lastic, A.L., Sakellaraki, P., Deraos, G., Matsoukas, J., Papathanasopoulos, P., Mouzaki, A., 'Regulatory Cell Populations in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis (RRMS) Patients: Effect of Disease Activity and Treatment Regimens', *Int. J. Mol. Sci.*, 25, 17-9, (2016).

Romashkova, J.A., Makarov, S.S., 'NF-κB is a target of AKT in anti-apoptotic PDGF signaling', *Nature*, 401, 86-90, (1999).

Rosenberg, G.A., Dencoff, J. E., Correa, N., Reiners, M., Ford, C.C., 'Effect of steroids on CSF matrix metalloproteinases in multiple sclerosis: relation to blood-brain barrier injury', *Neurology*, 46, 1626–32, (1996).

Rosenberg, L.S. Carvlin, M.J., Krugh, T.R., 'The antitumor agent mitoxantrone binds cooperatively to DNA: evidence for heterogeneity in DNA conformation', *Biochemistry*, 25, 1002–1008, (1986).

Rossi, S., Mancino, R., Bergami, A., Mori, F., Castelli, M., De Chiara, V., Studer, V., Mataluni, G., Sancesario, G., Parisi, V., Kusayanagi, H., Bernardi, G., Nucci, C., Bernardini, S., Martino, G., Furlan, R., Centonze, D., Potential role of IL-13 in neuroprotection and cortical excitability regulation in multiple sclerosis', *Mult. Scler.*, 17, 1301-12, (2011).

Rossi, V., Teillet, F., Thielens, N.M., Bally, I., Arlaud, G.J., 'Functional characterization of complement proteases C1s/mannan-binding lectin-associated serine protease-2 (MASP-2) chimeras reveals the higher C4 recognition efficacy of the MASP-2 complement control protein modules', *J. Biol. Chem.*, 280, 41811-8, (2005).

Ruger, K., Ottenlinger, F., Schroder, M., Zivkovic, A., Stark, H., Pfeilschifter, J. M., Radeke, H. H. 'Modulation of IL-33/ST2-TIR and TLR Signalling Pathway by FTY720 and Analogues in Immune Cells', *Scand J. Immunol.*, 80, 398-407, (2014).

Sacerdote, P., 'Opioids and the immune system', *Palliat Med.*, 20, 9-15, (2006).

Sakai, R., Kondo, C., Oka, H., Miyajima, H., Kubo, K., Uehara, T., 'Utilization of CDKN1A/p21 gene for class discrimination of DNA damage-induced clastogenicity', *Toxicology*, 315, 8-16, (2014).

Sakamoto, K.M., Frank, D.A., 'CREB in the Pathophysiology of Cancer: Implications for Targeting Transcription Factors for Cancer Therapy', *Clin. Cancer Res.*, 15, 2583-7, (2009).

Sakatsume, M., Igarashi, K., Winestock, K.D., Garotta, G., Larner, A.C., Finbloom, D.S., 'The Jak kinases differentially associate with the alpha and beta (accessory factor) chains of the interferon gamma receptor to form a functional receptor unit capable of activating STAT transcription factors', *J. Biol. Chem.*, 270, 17528-34, (1995).

Saltzman, A., Stone, M., Franks, C., Searfoss, G., Munro, R., Jaye, M., Ivashchenko, Y., 'Cloning and characterization of human Jak-2 kinase: high mRNA expression in immune cells and muscle tissue', *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 246, 627-33, (1998).

Samson, W.K., 'Proadrenomedullin-derived peptides', *Front Neuroendocrinol.*, 19, 100-27, (1998).

Sanmartín, E., Ortiz-Martínez, F., Pomares-Navarro, E., García-Martínez, A., Rodrigo-Baños, M., García-Escolano, M., Andrés, L., Lerma, E., Aranda, F.I., Martínez-Peinado, P., Sempere-Ortells, J.M., Peiró, G.,

'CD44 induces FOXP3 expression and is related with favorable outcome in breast carcinoma', *Virchows Arch.*, (Epub ahead of print), (2016).

Sawcer, S., Hellenthal, G., Pirinen, M., Spencer, C.C., Patsopoulos, N.A., Moutsianas, L., 'Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis', *Nature*, 476, 214–219, (2011).

Saxena, N.K., Vertino, P.M., Anania, F.A., Sharma, D., 'Leptin-induced growth stimulation of breast cancer cells involves recruitment of histone acetyltransferases and mediator complex to cyclin D1 promoter via activation of Stat3', *J. Biol. Chem.*, 282, 13316-25, (2007).

Schmidt, H., Williamson, D., Ashley-Koch, A., 'HLA-DR15 haplotype and multiple sclerosis: a HuGE review', *American Journal of Epidemiology*, 165, 1097-1109, (2007).

Schönrock, L.M., Gawlowski, G., Brück, W., 'Interleukin-6 expression in human multiple sclerosis lesions', *Neurosci. Lett.*, 294, 45-8, (2000).

Schreibelt, G., Musters, R.J., Reijerkerk, A., de Groot, L.R., van der Pol, S.M., Hendriks, E.M., Dopp, E.D., Dijkstra, C.D., Drukarch, B., de Vries, H.E., 'Lipoic acid affects cellular migration into the central nervous system and stabilizes blood-brain barrier integrity', *J. Immunol.*, 177, 2630-2637, (2006).

Schulze-Osthoff, K., Ferrari, D., Los, M., Wesselborg, S., Peter, M.E., 'Apoptosis signaling by death receptors', *Eur. J. Biochem.*, 254, 439-59, (1998).

Schütt, A., Zacharias, M., Schneider, N., Horn, S., Grötzinger, J., Rose-John, S., Schmidt-Arras, D., 'gp130 activation is regulated by D2-D3 interdomain connectivity', *Biochem. J.*, 450, 487-96, (2013).

Semper, R.P., Mejías-Luque, R., Groß, C., Anderl, F., Müller, A., Vieth, M., Busch, D.H., Prazeres da Costa, C., Ruland, J., Gro, O., Gerhard, M., 'Helicobacter pylori-induced IL-1 β secretion in innate immune cells is regulated by the NLRP3 inflammasome and requires the cag pathogenicity island', *J. Immunol.*, 193, 3566-76, (2014).

Seong, H.A., Jung, H., Kim, K.T., Ha, H., '3-Phosphoinositide-dependent PDK1 negatively regulates transforming growth factor-beta-induced signaling in a kinase-dependent manner through physical interaction with Smad proteins', *J. Biol. Chem.*, 282, 12272-89, (2007).

Serra, R.W., Fang, M., Park, S.M., Hutchinson, L., Green, M.R., 'A KRAS-directed transcriptional silencing pathway that mediates the CpG island methylator phenotype', *Elife*, 12(3), e02313, (2014).

Sharma, A., Askari, J.A., Humphries, M.J., Jones, E.Y., Stuart, D.I., 'Crystal structure of a heparin- and integrin-binding segment of human fibronectin', *EMBO J.*, 18, 1468-79, (1999).

Sharma, D., Balamurali, M.M., Chakraborty, K., Kumaran, S., Jeganathan, S., Rashid, U., Ingallinella, P., Varadarajan, R., 'Protein minimization of the gp120 binding region of human CD4', *Biochemistry*, 44, 16192-202, (2005).

Shouval, D.S., Ouahed, J., Biswas, A., Goettel, J.A., Horwitz, B.H., Klein, C., Muise, A.M., Snapper, S.B., 'Interleukin 10 receptor signaling: master regulator of intestinal mucosal homeostasis in mice and humans', *Adv. Immunol.*, 122, 177-210, (2014).

Singh, V., Voss, E.V., Bénardais, K., Stangel, M., 'Effects of 2-chlorodeoxyadenosine (Cladribine) on primary rat microglia', *J. Neuroimmune Pharmacol.*, 7, 939-50, (2012).

Silletti, S., Kessler, T., Goldberg, J., Boger, D. L. and Cheresch, D. A., 'Disruption of matrix metalloproteinases2 binding to integrin alpha beta 3 by an inorganic molecule inhibits angiogenesis and tumor growth in vivo', *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 98, 119-124, (2001).

Silva, K.L., Melo, L.M., Perosso, J., Oliveira, B.B., Santos, P.S., Eugênio Fde, R., Lima, V.M., 'CD95 (FAS) and CD178 (FASL) induce the apoptosis of CD4+ and CD8+ cells isolated from the peripheral blood and spleen of dogs naturally infected with *Leishmania* spp', *Vet. Parasitol.*, 197, 470-6, (2013).

Simpson, J.E., Newcombe, J., Cuzner, M.L., Woodrofe, M.N., 'Expression of monocyte chemoattractant protein-1 and other betachemokines by resident glia and inflammatory cells in multiple sclerosis lesions', *J. Neuroimmunol.*, 84, 238-249, (1998).

Siu, C.R., Balsor, J.L., Jones, D.G., Murphy, K.M., 'Classic and Golli Myelin Basic Protein have distinct developmental trajectories in human visual cortex', *Front Neurosci.*, 9, 138, (2015).

Sizemore, S., Cicek, M., Sizemore, N., Ng, K.P., Casey, G., 'Podocalyxin increases the aggressive phenotype of breast and prostate cancer cells in vitro through its interaction with ezrin', *Cancer Res.*, 67, 6183-91, (2007).

Slemc, L., Kunej, T., 'Transcription factor HIF1A: downstream targets, associated pathways, polymorphic hypoxia response element (HRE) sites, and initiative for standardization of reporting in scientific literature', *Tumour. Biol.*, 37, 14851-14861, (2016).

Smolen, J.S., Schoels, M.M., Nishimoto, N., Breedveld, F.C., Burmester, G.R., Dougados, M., Emery, P., Ferraccioli, G., Gabay, C., Gibofsky, A., Gomez-

- Reino, J.J., Jones, G., Kvien, T.K., Murakami, M., Betteridge, N., Bingham, C.O., et. all, 'Consensus statement on blocking the effects of interleukin-6 and in particular by interleukin-6 receptor inhibition in rheumatoid arthritis and other inflammatory conditions', *Ann. Rheum. Dis.*, 72, 482–492, (2013).
- Song, H.Y., Lee, M.J., Kim, M.Y., Kim, K.H., Lee, I.H., Shin, S.H., Lee, J.S., Kim, J.H., 'Lysophosphatidic acid mediates migration of human mesenchymal stem cells stimulated by synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis', *Biochim. Biophys. Acta.*, 1801, 23-30, (2010).
- Sorensen, P.S., Bertolotto, A., Edan, G., Giovannoni, G., Gold, R., Havrdova, E., Kappos, L., Kieseier, B.C., Montalban, X., Olsson, T., 'Risk stratification for progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with natalizumab', *Multiple Sclerosis*, 18, 143–152, (2012).
- Sospedra, M., Martin, R., 'Immunology of multiple sclerosis', *Annual Review of Immunology*, 23, 683-747, (2005).
- Sotoodehnia, N., Li, G., Johnson, C.O., Lemaitre, R.N., Rice, K.M., Rea, T.D., Siscovick, D.S., 'Genetic Variation in ACE-related pathways associated with Sudden Cardiac Arrest Risk Heart Rhythm', *Heart Rhythm*, 6, 1306–1314, (2009).
- Spiegel, S., Milstien, S., 'Functions of a new family of sphingosine-1-phosphate receptors', *Biochim. Biophys. Acta.*, 1484, 107-116, (2000).
- Stauffer, M., 'Understanding Multiple sclerosis', Ph. D Thesis, American University, Washington D.C., (2006).
- Steinman, L., 'Multiple sclerosis: a two-stage disease', *Nature Immunology*, 2, 762-764, (2001).
- Subei, A.M., Cohen, J.A., 'Sphingosine 1-Phosphate Receptor. Modulators in Multiple Sclerosis', *CNS Drugs*, 29, 565–575, (2015).
- Surendran, S., Rajasankar, S., 'Aspartoacylase deficiency in the white matter of human immunodeficiency virus encephalitis: novel mechanism in axonal damage', *Patholog. Res. Int.*, 2011, 426058, (2011).
- Szczuciński, A., Kalinowska, A., Losy, J., 'CXCL11 (Interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant) and interleukin-18 in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with methylprednisolone', *Eur. Neurol.*, 58, 228-232, (2007).
- Szczuciński, A., Losy, J., 'CCL5, CXCL10 and CXCL11 chemokines in patients with active and stable relapsing-remitting multiple sclerosis', *Neuroimmunomodulation*, 18, 67-72, (2011).
- Tager, A.M., LaCamera, P., Shea, B.S., Campanella, G.S., Selman, M., Zhao, Z., Polosukhin, V., Wain, J., Karimi-Shah, B.A., Kim, N.D., Hart, W.K., Pardo,

- A., Blackwell, T.S., Xu, Y., Chun, J., Luster, A.D., 'The lysophosphatidic acid receptor LPA1 links pulmonary fibrosis to lung injury by mediating fibroblast recruitment and vascular leak', *Nat. Med.*, 14, 45-54, (2007).
- Tajouri, L., Mellick, A.S., Ashton, K.J., Tannenbergs, A.E., Nagra, R.M., Tourtellotte, W.W., Griffiths, L.R., 'Quantitative and qualitative changes in gene expression patterns characterize the activity of plaques in multiple sclerosis', *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 119, 170-183, (2003).
- Tajouri, L., Fernandez, F., Griffiths, L.R., 'Gene Expression Studies in Multiple Sclerosis', *Curr. Genomics*, 8, 181-189, (2007).
- Tang, P., Xiong, Q., Ge, W., Zhang, L., 'The role of microRNAs in osteoclasts and osteoporosis', *RNA Biol.*, 11, 1355-63, (2014).
- Tasaki, A., Shimizu, F., Sano, Y., Fujisawa, M., Takahashi, T., Haruki, H., Abe, M., Koga, M., Kanda, T., 'Autocrine MMP-2/9 secretion increases the BBB permeability in neuromyelitis optica', *Journal of Neurology Neurosurgery Psychiatry*, 85, 419-430, (2014).
- Teitelbaum, D., Webb, C., Bree, M., Meshorer, A., Arnon, R., Sela, M., 'Suppression of experimental allergic encephalomyelitis in Rhesus monkeys by a synthetic basic copolymer', *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 3, 256-62, (1974).
- Thiele, S., de Sanctis, L., Werner, R., Grötzinger, J., Aydin, C., Jüppner, H., Bastepe, M., Hiort, O., 'Functional characterization of GNAS mutations found in patients with pseudohypoparathyroidism type Ic defines a new subgroup of pseudohypoparathyroidism affecting selectively Gs α -receptor interaction', *Hum. Mutat.*, 32, 653-60, (2011).
- Timothy, A., 'Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm', *Cell*, 76, 301-314, (1994).
- Tracy, J. Y., Kory R. J., Veronique, E. M., Chao, Z., Quandt, J., Harrisingh, M.C., Swire, M., Williams, A., McFarland, H.F., Franklin, R.J.M., 'Identification of endothelin 2 as an inflammatory factor that promotes central nervous system remyelination', *Brain A Journal of Neurology*, 1035-1047, (2013).
- Traka, M., Podojil, J.R., McCarthy, D.P., Miller, S.D., Popko, B., 'Oligodendrocyte death results in immune-mediated CNS demyelination', *Nat. Neurosci.*, 19, 65-74, (2016).
- Tramacere I, Del Giovane C, Salanti G, D'Amico R, Filippini G., 'Immunomodulators and immunosuppressants for relapsing-remitting multiple sclerosis: a network meta-analysis', *Cochrane Database Systematic Review*, doi: 10.1002-14651858, (2015).
- Tran, H., Brunet, A., Grenier, J.M., Datta, S.R., Fornace, A.J., Jr, Distefano, P.S., Chiang, L.W., Greenberg, M.E., 'DNA repair pathway stimulated by the forkhead

transcription factor FOXO3a through the Gadd45 protein', *Science*, 296, 530-4, (2002).

Tuusa, J.T., Petaja-Repo, U.E., 'Phe27Cys polymorphism of the human delta opioid receptor predisposes cells to compromised calcium signaling', *Mol. Cell Biochem.*, 351, 173-81, (2011).

Ullah Shah, A., Mahjabeen, I., Kayani, M.A., 'Genetic polymorphisms in cell cycle regulatory genes CCND1 and CDK4 are associated with susceptibility to breast cancer', *J. Buon.*, 20, 985-93, (2015).

Ushio, S., Namba, M., Okura, T., Hattori, K., Nukada, Y., Akita, K., Tanabe, F., Konishi, K., Micallef, M., Fujii, M., Torigoe, K., Tanimoto, T., Fukuda, S., Ikeda, M., Okamura, H., Kurimoto, M., 'Cloning of the cDNA for human IFN-gamma inducing factor', *J. Immunol.*, 15, 4274-4279, (1996).

Vallejo, R., de Leon-Casasola, O., Benyamin, R., 'Opioid therapy and immunosuppression: a review', *Am. J. Ther.*, 11, 354- 365, (2004).

Van der Goes, A., Wouters, D., Van Der Pol, S.M., Huizinga, R., Ronken, E., Adamson, P., Greenwood, J., Dijkstra, C.D., De Vries, H.E., 'Reactive oxygen species enhance the migration of monocytes across the blood-brain barrier in vitro', *FASEB J.*, 15, 1852-1854, (2001).

Van Horsen, J., Schreibelt, G., Drexhage, J., Hazes, T., Dijkstra, C.D., van der Valk, P., de Vries, H.E., 'Severe oxidative damage in multiple sclerosis lesions coincides with enhanced antioxidant enzyme expression', *Free Radic. Biol. Med.*, 45, 1729-1737, (2008).

Ventorp, F., Barzilay, R., Erhardt, S., Samuelsson, M., Träskman-Bendz, L., Janelidze, S., Weizman, A., Offen, D., Brundin, L., 'The CD44 ligand hyaluronic acid is elevated in the cerebrospinal fluid of suicide attempters and is associated with increased blood-brain barrier permeability', *J. Affect. Disord.*, 193, 349-54, (2016).

Vergetaki, A., Jeschke, U., Vrekoussis, T., Taliouri, E., Sabatini, L., Papakonstanti, E.A., Makrigiannakis, A., 'Differential expression of CRH, UCN, CRHR1 and CRHR2 in eutopic and ectopic endometrium of women with endometriosis', *PLoS One*, 8(4), e623132013, (2013).

Vuolteenaho, K., Koskinen, A., Kukkonen, M., Nieminen, R., Paivarinta, U., Moilanen, T., Moilanen, E., 'Leptin enhances synthesis of proinflammatory mediators in human osteoarthritic cartilage--mediator role of NO in leptin-induced PGE2, IL-6, and IL-8 production', *Mediators Inflamm.*, 2009, 345838, (2009).

Waetzig, G.H., Chalaris, A., Rosenstiel, P., Suthaus, J., Holland, C., Karl, N., Vallés Uriarte, L., Till, A., Scheller, J., Grötzinger, J., Schreiber, S., Rose-John, S., Seeger, D., 'N-linked glycosylation is essential for the stability but not the signaling function

of the interleukin-6 signal transducer glycoprotein 130', *J. Biol. Chem.*, 285, 1781-9, (2010).

Wain, L.V., Verwoert, G.C., O'Reilly, P.F., Shi, G., Johnson, T., Johnson, A.D., Bochud, M., Rice, K.M., Henneman, P., Smith, A.V., Ehret, G.B., Amin, N., Larson, M.G., Mooser, V., Hadley, D., Dörr, M., Bis, J.C., Aspelund, T., Esko, T., Janssens, A.C., Zhao, J.H., Heath, S., Laan, M., Fu, J., Pistis, G., Luan, J., Arora, P., Lucas, G., Pirastu, N., Pichler, I., Jackson, A.U., et al., 'Genome-wide association study identifies six new loci influencing pulse pressure and mean arterial pressure', *Nat. Genet.*, 43, 1005-11, (2011).

Wang, H., Zhang, X., Geng, L., Teng, L., Legerski, R.J., 'Artemis regulates cell cycle recovery from the S phase checkpoint by promoting degradation of cyclin E', *J. Biol. Chem.*, 284, 18236-432009, (2009).

Wang, J., Tang, S., Shen, H., 'Association of genetic polymorphisms in the IL12-IFNG pathway with susceptibility to and prognosis of pulmonary tuberculosis in a Chinese population', *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 29, 1291-5, (2010).

Wang, L., Ellsworth, K.A., Moon, I., Pelleymounter, L.L., Eckloff, B.W., Martin, Y.N., Fridley, B.L., Jenkins, G.D., Batzler, A., Suman, V.J., Ravi, S., Dixon, J.M., Miller, W.R., Wieben, E.D., Buzdar, A., Weinshilboum, R.M., Ingle, J.N., 'Functional genetic polymorphisms in the aromatase gene CYP19 vary the response of breast cancer patients to neoadjuvant therapy with aromatase inhibitors', *Cancer Res.*, 70, 319-28, (2010).

Wang, W., Huang, Y., Zhou, Z., Tang, R., Zhao, W., Zeng, L., Xu, M., Cheng, C., Gu, S., Ying, K., Xie, Y., Mao, Y., 'Identification and characterization of AGTRAP, a human homolog of murine Angiotensin II Receptor-Associated Protein (Agtrap)', *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 34, 93-102, (2002).

Wang, Y., Fu, W., Xie, F., Wang, Y., Chu, X., Wang, H., Shen, M., Wang, Y., Wang, Y., Sun, W., Lei, R., Yang, L., Wu, H., Foo, J., Liu, J., Jin, L., Huang, W., 'Common polymorphisms in ITGA2, PON1 and THBS2 are associated with coronary atherosclerosis in a candidate gene association study of the Chinese Han population', *J. Hum. Genet.*, 5, 490-4, (2010).

Warnke, C., Wiendl, H., Hartung, H.P., Stüve, O., Kieseier, B.C., 'Identification of targets and new developments in the treatment of multiple sclerosis--focus on cladribine', *Drug Des. Devel. Ther.*, 21, 117-26, (2010).

Watkins, W.S., Hunt, S.C., Williams, G.H., Tolpinrud, W., Jeunemaitre, X., Lalouel, J.M., Jorde, L.B., 'Genotype-phenotype analysis of angiotensinogen polymorphisms and essential hypertension: the importance of haplotypes', *J. Hypertens.*, 28, 65-75, (2010).

Weinshenker, B.G., 'Epidemiology of multiple sclerosis', *Neurologic Clinics*, 14, 291–308, (1996).

Wen, A.Y., Sakamoto, K.M., Miller, L.S., 'The role of the transcription factor CREB in immune function', *J. Immunol.*, 185, 6413-9, (2010).

Whitney, L.W., Becker, K.G., Tresser, N.J., Caballero-Ramos, C.I., Munson, P.J., Prabhu, V.V., Trent J.M., Mcfarland, H.F., Biddison, W.E., 'Analysis of gene expression in multiple sclerosis lesions using cDNA microarrays', *Ann. Neurol.*, 46, 425-8, (1999).

Wilson, L.S., Baillie, G.S., Pritchard, L.M., Umana, B., Terrin, A., Zaccolo, M., Houslay, M.D., Maurice, D.H., 'A phosphodiesterase 3B-based signaling complex integrates exchange protein activated by cAMP 1 and phosphatidylinositol 3-kinase signals in human arterial endothelial cells', *J. Biol. Chem.*, 286, 16285-96, (2011).

Wingerchuk, D.M., 'Smoking: effects on multiple sclerosis susceptibility and disease progression', *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, 5, 13–22, (2012).

Wu, H., Wang, C., Gregory, K.J., Han, G.W., Cho, H.P., Xia, Y., Niswender, C.M., Katritch, V., Meiler, J., Cherezov, V., Conn, P.J., Stevens, R.C., 'Structure of a class C GPCR metabotropic glutamate receptor 1 bound to an allosteric modulator', *Science*, 344, 58-64, (2014).

Wu, M., Tsirka, S.E., 'Endothelial NOS-deficient mice reveal dual roles for nitric oxide during experimental autoimmune encephalomyelitis', *Glia*, 57, 1204–1215, (2009).

Wu, S.N., Gao, R., Xing, Q.H., Li, H.F., Shen, Y.F., Gu, N.F., Feng, G.Y., He, L., 'Association of DRD2 polymorphisms and chlorpromazine-induced extrapyramidal syndrome in Chinese schizophrenic patients', *Acta Pharmacol. Sin.*, 27, 966-70, (2006).

Wu, Z.Z., Li, D.P., Chen, S.R., Pan, H.L., 'Aminopyridines Potentiate Synaptic and Neuromuscular Transmission by Targeting the Voltage-activated Calcium Channel β Subunit', *The Journal of Biological Chemistry*, 284(52), 36453–61, (2009).

Wynn, T.A., 'IL-13 effector functions', *Annu. Rev. Immunol.*, 21;425-56, (2003).

Xiao, C., Bator, C.M., Bowman, V.D., Rieder, E., He, Y., Hébert, B., Bella, J., Baker, T.S., Wimmer, E., Kuhn, R.J., Rossmann, M.G., 'Interaction of coxsackievirus A21 with its cellular receptor, ICAM-1', *J. Virol.*, 75, 2444-51, (2001).

Xiao, C., Bator-Kelly, C.M., Rieder, E., Chipman, P.R., Craig, A., Kuhn, R.J., Wimmer, E., Rossmann, M.G., 'The crystal structure of coxsackievirus A21 and its interaction with ICAM-1', *Structure*, 13, 1019-33, (2005).

- Xiong, Y., Qu, Z., Chen, N., Gong, H., Song, M., Chen, X., Du, J., Xu, C., 'The local corticotropin-releasing hormone receptor 2 signalling pathway partly mediates hypoxia-induced increases in lipolysis via the cAMP-protein kinase A signalling pathway in white adipose tissue', *Mol. Cell Endocrinol.*, 392, 106-14, (2014).
- Xu, J., Gao, X.P., Ramchandran, R., Zhao, Y.Y., Vogel, S.M., Malik, A.B., 'Nonmuscle myosin light-chain kinase mediates neutrophil transmigration in sepsis-induced lung inflammation by activating beta2 integrins', *Nat. Immunol.*, 9, 880-6, (2008).
- Xu, Y.H., Barnes, S., Sun, Y., Grabowski, G.A., Multi-system disorders of glycosphingolipid and ganglioside metabolism, *J. Lipid Res.*, 51, 1643-1675, (2010).
- Yamada, S., Yamamoto, M., Ozawa, H., et al., 'Reduced Phosphorylation of cyclic-AMP Responsive Element Binding Protein in The Post-mortem Orbitofrontal Cortex of Patients with Major Depressive Disorder', *J. Neural. Trans.*, 110, 671-680, (2003).
- Yang, Y., Guo, Y., Tan, S., Ke, B., Tao, J., Liu, H., Jiang, J., Chen, J., Chen, G., Wu, B., ' β -Arrestin1 enhances hepatocellular carcinogenesis through inflammation-mediated Akt signalling', *Nat. Commun.*, 16, 6-7369, (2015).
- Yang, Y., Li, C., Gyina, P.N., Racke, A.L., Racke, M., 'Targeting IL-6/STAT3 pathway with small-molecule compounds for multiple sclerosis therapy', *The Journal of Immunology*, 192, 201-5, (2015).
- Yasuda, H., Kamide, K., Takiuchi, S., Matayoshi, T., Hanada, H., Kada, A., Yang, J., Miwa, Y., Yoshii, M., Horio, T., Yoshihara, F., Nakamura, S., Nakahama, H., Tei, C., Miyata, T., Kawano, Y., 'Association of single nucleotide polymorphisms in endothelin family genes with the progression of atherosclerosis in patients with essential hypertension', *J. Hum. Hypertens.*, 21, 883-92, (2007).
- Yeh A.E., Weinstock-Guttman, B., 'FTY720: an Oral Disease-Modifying Therapy for Relapsing Multiple Sclerosis', *Adv. Ther.*, 28, 270-278, (2011).
- You, R., Klein, R.M., Zheng, M., McKeown-Longo, P.J., 'Regulation of p38 MAP kinase by anastellin is independent of anastellin's effect on matrix fibronectin', *Matrix Biol.*, 28, 101-9, (2009).
- Yu, F., Sugawara, T., Maier, C.M., Hsieh, L.B., Chan, P.H., 'Akt/Bad signaling and motor neuron survival after spinal cord injury', *Neurobiol. Dis.*, 20, 491-9, (2005).
- Yu, R.B., Hong, X., Ding, W.L., Tan, Y.F., Zhang, Y.X., Sun, N.X., Wu, G.L., Zhan, S.W., Ge, D.F., 'The association between the genetic polymorphism of HLA-DQA1, DQB1, and DRB1 and serum alanine aminotransferase levels in chronic hepatitis C in the Chinese population', *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 23, 1394-402, (2008).

Yuan, Z., Gong, S., Luo, J., Zheng, Z., Song, B., Ma, S., Guo, J., Hu, C., Thiel, G., Vinson, C., Hu, C.D., Wang, Y., Li, M., 'Opposing roles for ATF2 and c-Fos in c-Jun-mediated neuronal apoptosis', *Mol. Cell Biol.*, 29, 2431-4, (2009).

Zariwala, M., Liu, J., Xiong, Y., 'Cyclin E2, a novel human G1 cyclin and activating partner of CDK2 and CDK3, is induced by viral oncoproteins', *Oncogene*, 17, 2787-98, (1998).

Zhang, H.H., Huang, J., Düvel, K., Boback, B., Wu, S., Squillace, R.M., Wu, C.L., 'Manning, B.D. Insulin Stimulates Adipogenesis through the Akt-TSC2-mTORC1 Pathway', *PLoS One*, 4(7), e6189, (2009).

Zhang, L., Zhao, Y., 'The regulation of Foxp3 expression in regulatory CD4(+)CD25(+) T cells: multiple pathways on the road', *Journal of Cellular Physiology*, 211, 590-7, (2007).

Zhang, L., Sui, R., 'Effect of SNP polymorphisms of EDN1, EDNRA, and EDNRB gene on ischemic stroke', *Cell Biochem. Biophys.*, 70, 233-9, (2014).

Zhang, W., Liu, H.T., 'MAPK signal pathways in the regulation of cell proliferation in mammalian cells', *Cell Research*, 12, 9-18, (2002).

Zhang, Y., McClellan, M., Efros, L., Shi, D., Bielekova, B., Tang, M.T., Vexler, V., Sheridan, J.P., 'Daclizumab reduces CD25 levels on T cells through monocyte-mediated trogocytosis', *Mult Scler.*, 20(2), 156-64, (2014).

Zhang, Z., Yan, J., Chang, Y., ShiDu Yan, S., Shi, H., 'Hypoxia inducible factor-1 as a target for neurodegenerative diseases', *Curr. Med. Chem.*, 18, 4335-43, (2011).

Zhao, H., Sapolsky, R.M., Steinberg, G.K., 'Phosphoinositide-3-kinase/akt survival signal pathways are implicated in neuronal survival after stroke', *Mol. Neurobiol.*, 34, 249-70, (2006).

Zhao, J., Wei, J., Bowser, R.K., Dong, S., Xiao, S., Zhao, Y., 'Molecular regulation of lysophosphatidic acid receptor 1 trafficking to the cell surface', *Cell Signal.*, 26, 2406-11, (2014).

Zhao, W., Pahar, B., Borda, J.T., Alvarez, X., Sestak, K., 'A decline in CCL3-5 chemokine gene expression during primary simian-human immunodeficiency virus infection', *PLoS One*, 2(8), e726, (2007).

Zhou, B.B., Elledge, S.J., 'The DNA damage response: putting checkpoints in perspective', *Nature*, 408, 433-9, (2000).

Zhou, L., Lopes, J.E., Chong, M.M., Ivanov, I.I., Min, R., Victora, G.D., Shen, Y., Du, J., Rubtsov, Y.P., Rudensky, A.Y., Ziegler, S.F., Littman, D.R., 'TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing ROR gamma function', *Nature*, 453, 236-40, (2008).

Zhou, X., Liu, F., Tian, M., Xu, Z., Liang, Q., Wang, C., Li, J., Liu, Z., Tang, K., He, M., Yang, Z., 'Transcription factors COUP-TFI and COUP-TFII are required for the production of granule cells in the mouse olfactory bulb', *Development*, 142, 1593-605, (2015).

EKLER

8. EKLER

EK A

Tablo A.1. MS Dizin Genleri İsimleri

GenBank No	Sembol	Tanım
NM_001124	ADM	Adrenomedullin
NM_032375	AKT1S1	AKT1 substratı 1 (prolince zengin)
NM_000038	APC	Adenomatuspoliposis koli
NM_000484	APP	Amiloid beta (A4) prekürsör proteini
NM_000049	ASPA	Aspartoasilaz
NM_004324	BAX	BCL2-bağımlı X proteini
NM_000633	BCL2	B-hücre CLL/lenfoma2
NM_138578	BCL2L1	BCL2-benzeri 1
NM_001734	C1S	Kompleman bileşen 1
NM_002982	CCL2	Kemokin (C-C motifi) ligandı 2
NM_002983	CCL3	Kemokin (C-C motifi) ligandı 3
NM_002985	CCL5	Kemokin (C-C motifi) ligandı 5
NM_006273	CCL7	Kemokin (C-C motifi) ligandı 7
NM_001295	CCR1	Kemokin (C-C motifi) reseptörü 1
NM_000579	CCR5	Kemokin (C-C motifi) reseptörü 5
NM_006139	CD28	CD28 molekülü
NM_000616	CD4	CD4 molekülü
NM_001250	CD40	CD40 molekülü, TNF reseptörü alt aile üyesi 5
NM_000610	CD44	CD44 molekülü
NM_001769	CD9	CD9 molekülü
NM_000757	CSF1	Koloni uyarıcı faktör 1 (makrofaj)
NM_001565	CXCL10	Kemokin (C-X-C motif) ligandı 10
NM_005409	CXCL11	Kemokin (C-X-C motif) ligandı 11
NM_002416	CXCL9	Kemokin (C-X-C motif) ligandı 9
NM_001504	CXCR3	Kemokin (C-X-C motif) reseptörü 3
NM_014329	EDC4	mRNA dekapaj güçlendirici 4
NM_001957	EDNRA	Endotelin reseptör tipi A
NM_001964	EGR1	Erken büyüme yanıtı 1

NM_005232	EPHA1	EPH reseptörü A1
NM_001982	ERBB3	V-erb-b2 eritroblastiklösemi, viral onkogen homologu 3
NM_003379	EZR	Ezrin
NM_000639	FASLG	Fas ligandı (TNF süper-aile üyesi 6)
NM_002026	FN1	Fibronektin 1
NM_014009	FOXP3	Forkhead kutusu P3
NM_002055	GFAP	Glial fibrilar asidik protein
NM_002070	GNAI2	Guanin nükleotid bağlayıcı protein (G protein), alfa inhibisyonunu aktive edici polipeptit 2
NM_000581	GPX1	Glutasyon peroksidaz 1
NM_002086	GRB2	Büyüme faktörü reseptörü-bağlı protein 2
NM_004964	HDAC1	Histon deasetilaz 1
NM_000521	HEXB	Hekzosaminidaz B (beta polipeptit)
NM_001530	HIF1A	Hipoksi indüklenebilir faktör 1, alfa alt birimi
NM_002124	HLA-DRB1	Ana histokompatibilite kompleksi, sınıf II, DR beta 1
NM_000201	ICAM1	Hücrelerarası adezyon molekülü 1
NM_000619	IFNG	İnterferon, gamma
NM_000572	IL10	İnterlökin 10
NM_002188	IL13	İnterlökin 13
NM_001562	IL18	İnterlökin 18 (interferon-gama uyarıcı faktör)
NM_000576	IL1B	İnterlökin 1, beta
NM_000417	IL2RA	İnterlökin 2 reseptör, alfa
NM_000600	IL6	İnterlökin 6 (interferon, beta 2)
NM_002184	IL6ST	İnterlökin 6 sinyal dönüştürücü (gp130, onkostatın M reseptörü)
NM_000211	ITGB2	İntegrin, beta 2 (tamamlayıcı bileşen 3 reseptörü 3 ve alt-ünite 4)
NM_002227	JAK1	Janus kinaz 1
NM_004972	JAK2	Janus kinaz 2
NM_002228	JUN	Jun proto-onkogen
NM_000595	LTA	Lenfo toksin alfa (TNF süper-ailesi, üye1)
NM_002361	MAG	Miyelin ilişkili glikoprotein
NM_002371	MAL	Mal, T-hücresi farklılaşma proteini
NM_002755	MAP2K1	Mitojenle aktive edilmiş protein kinaz 1
NM_002745	MAPK1	Mitojenle aktive edilmiş protein kinaz1
NM_002385	MBP	Miyelin temel proteini
NM_004994	MMP9	Matrismetalo peptidaz 9
NM_002467	MYC	V-mycmyelocytomatosis viral onkogen homologu
NM_003998	NFKB1	Kappa hafif polipeptid gen arttırıcı nükleer faktörü 1

NM_005654	NR2F1	Nükleer reseptör alt ailesi 2, F grubu, üye 1
NM_002527	NTF3	Nörotrofin 3
NM_006623	PHGDH	Fosfogliserat dehidrojenaz
NM_000533	PLP1	Proteolipid protein 1
NM_000304	PMP22	Periferel myelin proteini 22
NM_002834	PTPN11	Protein tirozin fosfataz, reseptör-olmayan tip 11
NM_002880	RAF1	V-raf-1 kemirgen lösemi, viral onkogen homologu 1
NM_002883	RANGAP1	Ran GTPaz aktive edici protein 1
NM_000454	SOD1	Süperoksitdismutaz 1, çözülebilir
NM_003150	STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3
NM_000660	TGFB1	Transforme edici büyüme faktörü beta 1
NM_003238	TGFB2	Transforme edici büyüme faktörü beta 2
NM_000594	TNF	Tümör nekroz faktörü
NM_001065	TNFRSF1A	Tümör nekroz faktörü reseptörü süper ailesi, 1A
NM_001066	TNFRSF1B	Tümör nekroz faktörü reseptörü süper ailesi, 1B
NM_003286	TOP1	Topoizomeraz (DNA) I
NM_006087	TUBB4	Tübülün, beta 4
NM_001078	VCAM1	Vasküler hücre adhezyon molekülü 1
NM_003376	VEGFA	Vasküler endotelyal büyüme faktörü A
NM_003405	YWHAH	Tirosin 3-monooksijenaz / triptofan 5-monooksijenaz aktivasyon proteini, beta polipeptidi
NM_001101	ACTB	Aktin, beta
NM_004048	B2M	Beta-2-mikroglobulin
NM_002046	GAPDH	Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz
NM_000194	HPRT1	Hipoksantin fosforibozil transferaz 1

Tablo A.2. GPCR Dizin Genleri İsimleri

GenBank No	Sembol	Tanım
NM_183357	ADCY5	Adenilatsiklaz 5
NM_000675	ADORA2A	Adenozin A2A reseptör
NM_000684	ADRB1	Adrenerjik beta-1-reseptör
NM_000024	ADRB2	Adrenerjik beta-2- yüzey reseptörü
NM_000029	AGT	Anjiyotensinojen (serpin peptidaz inhibitörü)
NM_031850	AGTR1	Anjiyotensin II reseptör tip 1
NM_000686	AGTR2	Anjiyotensin II reseptör tip 2
NM_020350	AGTRAP	Anjiyotensin II protein bağlı reseptör
NM_005163	AKT1	V-aktmurintimoma viral onkogen homologu 1
NM_004041	ARRB1	Arrestin beta1

NM_004313	ARRB2	Arrestin beta 2
NM_001702	BAI1	Beyin spesifik anjiyogenez inhibitörü 1
NM_000633	BCL2	B-hücreli CLL/lenfoma 2
NM_138578	BCL2L1	BCL2-1 benzeri
NM_001742	CALCR	Kalsitonin reseptörü
NM_005795	CALCRL	Kalsitonin reseptör benzeri
NM_000388	CASR	Kalsiyum algılayan reseptör
NM_002982	CCL2	Kemokin (C-C motif) ligandı 2
NM_002984	CCL4	Kemokin (C-C motif) ligandı 4
NM_053056	CCND1	Siklin D1
NM_001238	CCNE1	Siklin E1
NM_057749	CCNE2	Siklin E2
NM_000389	CDKN1A	Siklin bağımlı kinaz inhibitörü 1A (p21, Cip1)
NM_004064	CDKN1B	Siklin bağımlı kinaz inhibitör 1B (p27, Kip1)
NM_003879	CFLAR	CASP8 ve FADD benzeri apoptoz regülatörü
NM_000088	COL1A1	Kollojen tip1, alfa 1
NM_004382	CRHR1	Kortikotropin salıcı hormon reseptörü 1
NM_001883	CRHR2	Kortikotropin salıcı hormon reseptörü 2
NM_001901	CTGF	Bağ doku büyüme faktörü
NM_000103	CYP19A1	Sitokrom P450, aile 19, alt aile A, polipeptit 1
NM_000794	DRD1	Dopamin reseptörü D1
NM_000795	DRD2	Dopamin reseptörü D2
NM_007026	DUSP14	Çift spesifik fosfataz 14
NM_001955	EDN1	Endotelin 1
NM_001964	EGR1	Erken büyüme yanıtı 1
NM_005229	ELK1	ELK1, ETS onkogen ailesi üyesi
NM_001973	ELK4	ELK4, ETS-domain protein (SRF aksesuar protein 1)
NM_002006	FGF2	Fibroblast büyüme faktörü 2 (temel)
NM_005252	FOS	FBJ fare osteosarkom viral onkogen homoloğu
NM_003857	GALR2	Galanin reseptörü 2
NM_000160	GCGR	Glukagon reseptörü
NM_002072	GNAQ	Guanine nukleotit bağlayıcı protein (G protein), q polipeptit
NM_080425	GNAS	GNAS kompleks lokusu
NM_000838	GRM1	Glutamat reseptör, metabotropik 1
NM_000839	GRM2	Glutamat reseptör, metabotropik 2
NM_000841	GRM4	Glutamat reseptör, metabotropik 4
NM_000842	GRM5	Glutamat reseptör, metabotropik 5
NM_000844	GRM7	Glutamat reseptör, metabotropik 7

NM_000201	ICAM1	Hücreler arası adezyon molekülü 1
NM_000576	IL1B	İnterlökin 1, beta
NM_000877	IL1R1	İnterlökin 1 reseptör, tip I
NM_004633	IL1R2	İnterlökin 1 reseptörü, tip II
NM_000586	IL2	İnterlökin 2
NM_002228	JUN	Jun proto-onkogen
NM_002229	JUNB	Jun B proto-onkogen
NM_000233	LHCGR	Lüteinleyici hormon / koryogonadotropin reseptörü
NM_057159	LPAR1	Lizofosfatidikasit reseptörü 1
NM_004720	LPAR2	Lizofosfatidikasit reseptörü 2
NM_002382	MAX	MYC bağımlı faktör X
NM_004994	MMP9	Matriks metallopeptidaz 9
NM_002467	MYC	V-mycmiyelositomatosıs viral onkogen homologu
NM_000625	NOS2	Nitrik oksit sentaz 2
NM_000911	OPRD1	Opioid reseptör, delta 1
NM_000912	OPRK1	Opioid reseptör, kappa 1
NM_002613	PDPK1	3-fosfoinosit bağımlı kinaz-1
NM_002649	PIK3CG	Fosfoinosit-3-kinaz, katalitik, gama polipeptit
NM_002737	PRKCA	Protein kinaz C, alfa
NM_000953	PTGDR	Prostaglandin D2 reseptör (DP)
NM_000963	PTGS2	Prostaglandin-endoperoksit sentaz 2
NM_000316	PTH1R	Paratiroid hormon 1 reseptör
NM_002923	RGS2	G -protein düzenleyici sinyal 2
NM_000539	RHO	Rodopsin
NM_001400	S1PR1	Sfingozin-1-fosfat reseptörü 1
NM_004230	S1PR2	Sfingozin-1-fosfat reseptörü 2
NM_005226	S1PR3	Sfingozin-1-fosfat reseptörü 3
NM_002980	SCTR	Seketin reseptörü
NM_000602	SERPINE1	Serpin peptidaz inhibitörü, E
NM_003745	SOCS1	Sitokin sinyal susturucu 1
NM_000594	TNF	Tümör nekroz faktör
NM_000369	TSHR	Tiroid sitümile edici hormon reseptörü
NM_021833	UCP1	Kenet açma proteini 1
NM_001078	VCAM1	Vasküler hücre adezyon molekülü 1
NM_003376	VEGFA	Vasküler endotelyal büyüme faktörü A
NM_003406	YWHAZ	Tirozin 3-monooksijenaz/triptofan 5-monooksijenaz aktive edici protein, zeta polipeptit
NM_001101	ACTB	Aktin, beta

NM_004048	B2M	Beta-2-mikroglobulin
NM_002046	GAPDH	Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz
NM_000194	HPRT1	Hipoksantin fosforibosil transferaz-1

Tablo A.3. MS genlerinin sekans, uzunluk ve sıcaklıkları

Kod	Gen Adı	Uzunluk (bç)	Sekans (5'→3')	TM
NM_002184	IL6ST_F1351	24	TGTACAACCTCGTGTGGAAGACATT	50.00
	IL6ST_R1589	22	GGTGAGTAGCTTGAAAGTCACA	
NM_002527	NTF3_F2	22	GCCAGAATAACACAGACTCAGC	50.00
	NTF3_R136	21	CCTTGGATGCCACGGAGATAA	
NM_001734	C1S_F27	21	TTTGGCATGGGTTTATGCTGA	51.00
	C1S_R166	22	GGGTGAAGTAGAGGTGAATCCC	
NM_006139	CD28_F76	23	CTATTTCCCGGACCTTCTAAGCC	51.00
	CD28_R239	21	GCGGGGAGTCATGTTTCATGTA	
NM_002188	IL13_F39	21	CCTCATGGCGCTTTTGTGAC	51.00
	IL13_F799	21	TCTGGTTCTGGGTGATGTTGA	
NM_004972	JAK2_F390	22	AGCCTATCGGCATGGAATATCT	51.00
	JAK2_R552	21	TAACACTGCCATCCCAAGACA	
NM_002228	JUN_F876	21	TCCAAGTGCCGAAAAAGGAAG	51.00
	JUN_R527	21	CGAGTTCTGAGCTTTCAAGGT	
NM_000595	LTA_F1	21	ATGACACCACCTGAACGTCTC	51.00
	LTA_R241	21	CTCTCCAGAGCAGTGAGTTCT	
NM_002755	MAP2K1_F381	21	GGGCTTCTATGGTGC GTTCTA	51.00
	MAP2K1_R606	21	CCCACGGGAGTTGACTAGGAT	
NM_002385	MBP_F454	21	TCGGCTCACAAGGGATTCAAG	51.00
	MBP_R543	23	TGATCCAGAGCGACTATCTCTTC	
NM_002467	MYC_F1105	21	GTCAAGAGGCGAACACACAAC	51.00
	MYC_R1266	21	TTGGACGGACAGGATGTATGC	
NM_000572	IL10_F314	20	TCTCCGAGATGCCTTCAGCAGA	51.00
	IL10_R489	22	TCAGACAAGGCTTGGCAACCCA	
NM_001562	IL18_F179	23	GATAGCCAGCCTAGAGGTATGG	51.00
	IL18_R321	21	CCTTGATGTTATCAGGAGGATTCA	
NM_000660	TGFB1_F 334	22	TACCTGAACCCGTGTTGCTCTC	51.00
	TGFB1_R 542	21	GTTGCTGAGGTATCGCCAGGAA	
NM_000038	APC_F10380	20	TTTAAGCATGGTGGGGCACT	55.00
	APC_R10589	21	GCAGTAGACACAGTACAGGCA	
NM_000049	ASPA_F49	22	TGCCCTTTGGGTAAAGTCTCAT	56.00
	ASPA_R240	20	CTCCGGTTAGCTCATTCCA	

NM_002745	MAPK1_F316	20	ACCAACCTCTCGTACATCGG	56.00
	MAPK1_R414	21	GGGGCTGATTTTCTTGATAGC	
NM_002026	FN1_F 7308	21	GCTGACAGAGAAGATTCCCGA	56.00
	FN1_R 7505	20	CCAGGGTGATGCTTGAGAA	
NM_000533	PLP1_F 8	20	GAAAGCCCTTTTCATTGCAGGA	56.00
	PLP1_R 136	20	GGCTAGTCTGCTTTGTGGCT	
NM_002834	PTPN11_F 1845	20	GACGTTCCCAAACCATCCA	56.00
	PTPN11_R 1975	21	TCTTCTCAATCCTGCGCTGT	
NM_003238	TGFB2_F 1698	21	CTTCTCCCCTCCGAAAATGC	56.00
	TGFB2_R 1870	20	GCTCAATCCGTTGTTTCAGGC	
NM_003286	TOP1_F 82	20	GGTAGCAGCCTCAGCCGTTT	56.00
	TOP1_R 293	22	AAATCCGCTTCGATCTGGGAAT	
NM_000600	IL6_F115	23	ACTCACCTCTTCAGAACGAATTG	59.00
	IL6_R245	23	CCATCTTTGGAAGGTTTCAGTTG	
NM_001504	CXCR3_F 72	20	GTCCTTGAGGTGAGTGACCA	59.00
	CXCR3_R 266	20	CAGCAGAAAGAGGAGGCTGT	
NM_000201	ICAM1_F 419	20	TCAAAAGTCATCCTGCCCCG	59.00
	ICAM1_R 628	20	AGCTGTTGACTGCCCATCAG	
NM_003405	YWHAH_F 292	18	GGAGCGCTACGACGACAT	59.00
	YWHAH_R 438	20	ATGCTGCTAATGACCCTCCA	
NM_001101	ACTB_F 71	16	GCCGCCAGCTCACCAT	59.00
	ACTB_R 276	20	GATGCCTCTCTTGCTCTGGG	
NM_004048	B2M_F 85	20	GTGCTCGCGCTACTCTCTCT	59.00
	B2M_R 228	20	TTCAATGTCCGATGGATGAA	
NM_002046	GAPDH_F 67	23	TTCTATAAATTGAGCCCGCAGCC	59.00
	GAPDH_R 203	20	CCGTTGACTCCGACCTTCAC	
NM_003998	NFKB1_F124	20	TCGCGCTGAGTATAAAAGCC	61.00
	NFKB1_R367	20	GGCAAAGTTTCGTGGATGCG	
NM_005409	CXCL11_F 22	20	TGGAAGCAGGAAAGGTGCAT	61.00
	CXCL11_R 232	20	TAGCCATGCCCTTCACACTC	
NM_002416	CXCL9_F 1534	20	GGCTCTTTCTGGCTACTCC	61.00
	CXCL9_R 1619	20	TCCCTGGTCCCTGTAGTGAG	
NM_001957	EDNRA_F 564	20	CTGGCACTGGTTGGATGTGT	61.00
	EDNRA_R 664	20	AGCTCTGTGCCACGAAAAGT	
NM_005232	EPHA1_F 297	20	AATGCAAGGACGCAGAGACA	61.00
	EPHA1_R 495	20	CTGAATGCCACATCCTGGT	
NM_003379	EZR_F 115	20	CGCTCTAAGGGTTCTGCTCT	61.00
	EZR_R 221	20	CGGCATTTTCGGTTTCTGGT	
NM_002070	GNAI2_F 232	20	TGATCGACAAGAACCTGCGG	61.00

	GNAI2_R 334	20	TGCTTGACGATGGTGTCTCTT	
NM_004964	HDAC1_F 107	20	ACGACGGGGATGTTGGAAT	61.00
	HDAC1_R 241	20	TGGCTTTGTGAGGGCGATAG	
NM_001530	HIF1_F 420	20	GGCGCGAACGACAAGAAAAA	61.00
	HIF1_R 540	20	GTGGCAACTGATGAGCAAGC	
NM_000619	IFNG_F 869	20	GGCTTTATCTCAGGGGCCAA	61.00
	IFNG_R 1019	20	TGGCTCAGATTGCAGGCATA	
NM_002880	RAF1_F 130	20	GAAAACGATTGTGAGGCGGG	61.00
	RAF1_R 245	19	CATCGTAGCAAACGCGCTC	
NM_003150	STAT3_F 127	20	AACAGGATGGCCAATGGAA	61.00
	STAT3_R 345	20	GAAGCGGCTATACTGCTGGT	
NM_001066	TNFRSF1B_F 2448	20	GGCAGGCCACCATATTCAGT	61.00
	TNFRSF1B_R 2564	20	GGCTTTGTTCGTTGGCTTGT	
NM_000194	HPRT1_F 182	20	CCCTGGCGTCGTGATTAGTG	61.00
	HPRT1_R 320	20	TCGAGCAAGACGTTTCAGTCC	
NM_001124	ADM_F734	19	ATGAAGCTGGTTTCCGTCG	62.00
	ADM_R915	20	GACATCCGCAGTTCCCTCTT	
NM_032375	AKT1S1_F120	20	CTGGAAGAGCCGAACGGATA	62.00
	AKT1S1_R326	20	CACGGCAGCATTCTTGCTT	
NM_000484	APP_F516	19	GCCCTGCGGAATTGACAAG	62.00
	APP_R659	22	CCATCTGCATAGTCTGTGTCTG	
NM_004324	BAX_F486	20	GACATTGGACTTCCCTCCGGG	62.00
	BAX_R683	20	CTGAAGATGGGGAGAGGGCA	
NM_000633	BCL2_F460	19	GGTGGGGTCATGTGTGTGG	62.00
	BCL2_R548	22	CGGTTCAAGTACTCAGTCATCC	
NM_138578	BCL2L1_F25	20	TGGTTCCTGAGCTTCGCAAT	62.00
	BCL2L1_R223	19	TTAGGCAAAGGCAGGCAGG	
NM_002982	CCL2_F339	20	ACCTGGACAAGCAAACCCAA	62.00
	CCL2_R433	20	TCTGGGGAAAGCTAGGGGAA	
NM_002983	CCL3_F144	20	CATGGCTCTCTGCAACCAGT	62.00
	CCL3_R271	20	ACTGGCTGCTCGTCTCAAAG	
NM_002985	CCL5_F250	20	CAGTCGTCTTTGTCACCCGA	62.00
	CCL5_R399	20	AGAGCAAGCAGAAACAGGCA	
NM_006273	CCL7_F229	20	AGAAGGACCACCAGTAGCCA	62.00
	CCL7_R321	20	CCACTTCTGTGTGGGGTCAG	
NM_001295	CCR1_F8	20	CCCAGAAAGCCCCAGAAACA	62.00
	CCR1_R162	20	CCCTCTCGTTCACCTTCTGG	

NM_000616	CD4_F43	20	ATCGGGCTTCCTGTCTCTCT	62.00
	CD4_R217	20	ACCTGAGCCCACAGAAATGG	
NM_001250	CD40_F163	21	ACTGAAACGGAATGCCTTCT	62.00
	CD40_R343	19	CCTCACTCGTACAGTGCCA	
NM_000610	CD44_F81	19	CTGCCGCTTTGCAGGTGTA	62.00
	CD44_R189	21	CATTGTGGGCAAGGTGCTATT	
NM_001769	CD9_F607	20	AACGCTGAAAGCCATCCACT	62.00
	CD9_R733	20	ATCAGGACAGGACTTCACGG	
NM_000757	CSF1_F944	20	ATGCTCCAGCCAAGATGTGG	62.00
	CSF1_R1013	20	ACTGCTAGGGATGGCTTTGG	
NM_001565	CXCL10_F404	20	ACCAGAGGGGAGCAAAATCG	62.00
	CXCL10_R476	20	GGAAGTGATGGGAGAGGCAG	
NM_000576	IL1B_F638	20	ACCTGTCCTGCGTGTTGAAA	62.00
	IL1B_R832	20	AGACGGGCATGTTTTCTGCT	
NM_000417	IL2RA_F646	20	GTGGTGGGGCAGATGGTTTA	62.00
	IL2RA_R868	20	TTGTGACGAGGCAGGAAGTC	
NM_000211	ITGB2_F68	20	CAACCCACCACTTCCTCCAA	62.00
	ITGB2_R181	20	TTTGCTACCAGTCTGCCCTG	
NM_002227	JAK1_F553	22	ATTGAGAACGAGTGTCTAGGGA	62.00
	JAK1_R802	20	CCTTCAGGTCATGCGTGGAC	
NM_002361	MAG_F234	21	CCAAGTAGTCCACGAGAGCTT	62.00
	MAG_R363	20	CAGGTCCCCACGGAAGTAGT	
NM_002371	MAL_F254	19	TCACCTTGGACGCAGCCTA	62.00
	MAL_R380	23	GCAATGTTTTTCATGGTAGTGCCT	
NM_004994	MMP9_F485	20	GGGACGCAGACATCGTCATC	62.00
	MMP9_R623	20	TCGTCATCGTCGAAATGGGC	
NM_005654	NR2F1_F973	21	ATCGTGCTGTTACGTCAGAC	62.00
	NR2F1_R1076	20	TGGCTCCTCACGTA CTCTC	
NM_014329	EDC4_F 3227	20	TCGGCACGAGCAGGAACAG	62.00
	EDC4_R 3427	20	GCCATAGGCTCCAGACTCCT	
NM_001964	EGR1_F 629	20	CCACGCCGAACACTGACATT	62.00
	EGR1_R 865	19	GAGGGGTTAGCGAAGGCTG	
NM_001982	ERBB3_F 598	20	ACCCAGGTCTACGATGGGAA	62.00
	ERBB3_R 790	20	CATCTCGGTCCCTCACGATG	
NM_000639	FASLG_F 435	20	CCTTGGTAGGATTGGGCCTG	62.00
	FASLG_R 527	20	CTGTGTGCATCTGGCTGGTA	
NM_014009	FOXP3_F 600	19	GTGGCCCCGATGTGAGAAG	62.00
	FOXP3_R 837	20	GGAGCCCTTGTCGGATGATG	
NM_002055	GFAP_F 1261	20	GTGTCAGAAGGCCACCTCAA	62.00

	GFAP_R 1464	20	TCAGGTCTGGGGAAATGTGC	
NM_000581	GPX1_F 203	20	TATCGAGAATGTGGCGTCCC	62.00
	GPX1_R 335	20	CTCCTGATGCCCAAACCTGGT	
NM_002086	GRB2_F 632	20	CTGGGGACTTCTCCCTCTCT	62.00
	GRB2_R 819	20	CACCTGTTCTATGTCCCGCA	
NM_000521	HEXB_F 36	18	GCTTCCTCTGATCCGGGC	62.00
	HEXB_R 211	20	GAGTCAGCAGCGCCAACATC	
NM_002124	HLA-DRB1_F 40	20	CCCTGAGTGAGACTTGCCTG	62.00
	HLA-DRB1_R 227	20	GACACTCCCTCTTAGGCTGC	
NM_006623	PHGDH_F 1908	20	CACATTCTTGGGCTGAACGC	62.00
	PHGDH_R 2014	20	GCAGAAGGAGTTGGGGGTAG	
NM_000304	PMP22_F 207	22	GATCCTGTGATCATCTTCAGC	62.00
	PMP22_R 339	20	AGCACTCATCACGCACAGAC	
NM_002883	RANGAP1_F 13	20	TCGAAGCAAAGAACTGCCG	62.00
	RANGAP1_R 161	20	GATCCAGCGGTCCAGATGTC	
NM_000454	SOD1_F 41	20	TAAAGTAGTCGCGGAGACGG	62.00
	SOD1_R 160	20	CTTCGTCGCCATAACTCGCT	
NM_000594	TNF_F 859	20	TGGGATCATTGCCCTGTGAG	62.00
	TNF_R 950	20	GGTGTCTGAAGGAGGGGGTA	
NM_001065	TNFRSF1A_F 152	20	CCGTGATCTCTATGCCCGAG	62.00
	TNFRSF1A_R 398	20	GGGACCAGTCCAATAACCCC	
NM_006087	TUBB4_F 195	20	ATCGACCCCACAGGCACATA	62.00
	TUBB4_R 299	20	CACCGCTCTGGGGACATAAT	
NM_001078	VCAM1_F 440	22	CAGTAAGGCAGGCTGTAAAAGA	62.00
	VCAM1_R 576	19	TGGAGCTGGTAGACCCTCG	
NM_000579	CCR5_F99	21	TCCAGTGAGAAAAGCCCGTAA	68.00
	CCR5_R323	21	ACGGATGTCTCAGCTCTTCTG	
NM_003376	VEGFA_F 1517	21	ATAAGTCCTGGAGCGTTCCT	68.00
	VEGFA_R 1650	21	GTTTAACTCAAGCTGCCTCGC	

Tablo A.4. GPCR genlerinin sekans, uzunluk ve sıcaklıkları

Kod	Gen Adı	Uzunluk (bp)	Sekans (5'→3')	TM
NM_003406	YVHAZ_F 153	21	TGTAGGAGCCCGTAGGTCATC	51.00
	YVHAZ_R 331	21	GTGAAGCATTGGGGATCAAGA	
NM_001955	EDN1_F 298	21	AAGGCAACAGACCGTGAAAAT	51.00
	EDN1_R 534	21	CGACCTGGTTTGTCTTAGGTG	

NM_004633	IL1R2_F 395	21	TCCTGCCGTTTCATCTCATACC	51.00
	IL1R2_R 589	23	CATCGTGTACGAGTAAGTGAGTG	
NM_002006	FGF2_F 627	21	AGTGTGTGCTAACCGTTACCT	51.00
	FGF2_R 796	21	ACTGCCCAGTTCGTTTCAGTG	
NM_004382	CRHR1_F756	22	CTACGACAATGAGAAGTGCTGG	51.00
	CRHR1_R878	21	ATGCGGACGATGTTGAAAAGG	
NM_000594	TNF_F 198	22	CCTCTCTCTAATCAGCCCTCTG	51.00
	TNF_R 417	21	GAGGACCTGGGAGTAGATGAG	
NM_000675	ADORA2A_F417	22	CATGCTAGGTTGGAACAACTGC	51.00
	ADORA2A_R601	21	AGATCCGCAAATAGACACCCA	
NM_001883	CRHR2_F103	21	CTGCATTACCGAATCGCCCTCA	51.00
	CRHR2_R253	23	CATTCCTCAGGCAGCGGATACT	
NM_002649	PIK3CG_F847	20	GAGAGCTTGGAGGACGATGATG	51.00
	PIK3CG_R996	19	CCACGCTTCAGCAGAAATCTGG	
NM_004041	ARRB1_F 216	20	TGGAGAACCCATCAGCGTCAAC	51.00
	ARRB1_R419	20	AGGCAGATGTCTGCATACTGGC	
NM_003745	SOCS1_F 156	19	TTCGCCCTTAGCGTGAAGATGG	51.00
	SOCS1_R 341	21	TAGTGCTCCAGCAGCTCGAAGA	
NM_021833	UCP1_F 274	20	AGTTCCTCACCGCAGGGAAAGA	51.00
	UCP1_R 394	21	GTAGCGAGGTTTGATTCCGTGG	
NM_000684	ADRB1_F 436	21	TTCCTGCCCATCCTCATGCACT	51.00
	ADRB1_R702	21	GTAGAAGGAGACTACGGACGAG	
NM_001702	BAI1_F 2300	19	ACCTGTTGGCAGAGGAGAATCG	51.00
	BAI1_R2542	20	GGTTGTCTGTCACCTGGTATGC	
NM_000839	GRM2_F 1965	19	CGGTTCTACAGTGATGTCTCC	51.00
	GRM2_R 2068	19	TGGCTTGGAGAAGTCAGGAGG	
NM_057749	CCNE2_F52	17	CTGAGCCGAGCGGTAGC	55.00
	CCNE2_R125	22	ACGGCTACTTCGTCTTGACATT	
NM_001742	CALCR_F366	22	TGAAAACAATCGAACCTGGTCC	59.00
	CALCR_R472	23	AAGAATGACCCACAATAGCCAAA	
NM_000103	CYP19A1_F 103	20	GCGACTCTAAATTGCCCCCT	61.00
	CYP19A1_R 247	20	AAAAAGGCCAGTGAGGAGCA	
NM_005252	FOS_F 532	20	TGGCGTTGTGAAGACCATGA	61.00
	FOS_R 720	20	AGTTGGTCTGTCTCCGCTTG	
NM_000842	GRM5_F 57	20	CGGAGGGAATGAGCTTGAGA	61.00
	GRM5_R 260	20	GGACCATTTTGTCCCCATGT	
NM_000586	IL2_F 37	20	AACCTCAACTCCTGCCACAA	61.00
	IL2_R 233	20	GCATCCTGGTGAGTTTGGGA	
NM_000233	LHCGR_F 233	20	TCACTTGCCCTACCTCCCTGT	61.00

	LHCGR_R 427	20	AAATGCTCCGGGCTCAATGT	
NM_004720	LPAR2_F 1219	20	CGGCAAGCAACAAATCCACA	61.00
	LPAR2_R 1430	20	AAGAGCCAGATTCTCTGCACC	
NM_001400	S1PR1_F 962	20	AAACTCCACAACGGGAGCAA	61.00
	S1PR1_R 1144	20	GAAGACCGTGGTGCAGAAGA	
NM_002982	CCL2_F 339	20	ACCTGGACAAGCAAACCCAA	61.00
	CCL2_R433	20	TCTGGGGAAAGCTAGGGGAA	
NM_000389	CDKN1A_F31	19	CAGCTGAGGTGTGAGCAGC	61.00
	CDKN1A_R158	19	GTTCTGACGGACATCCCCA	
NM_000912	OPRK1_F310	18	CAGCAGCGCCTGGTTTCC	61.00
	OPRK1_R456	20	AAGCCCACGACGAACACTAC	
NM_000953	PTGDR_F950	20	ATCGCGCTTACTATGGAGCA	61.00
	PTGDR_R1147	20	ACCGGCTCCTGTACCTAAGA	
NM_000794	DRD1_F 950	20	GGACTCTGAACACCTCTGCC	62.00
	DRD1_R 1097	20	AACCTGATAACGGCAGCACA	
NM_001964	EGR1_F 138	20	CCTGCACGCTTCTCAGTGTT	62.00
	EGR1_R 352	20	TGGGCGAGTGAGGAAAGGAT	
NM_000160	GCGR_F 1431	20	GCCAAGCTCTTCTTCGACCT	62.00
	GCGR_R 1570	20	TCCCATAGCACTTTGCCAG	
NM_002072	GNAQ_F 3055	20	TGGAACAACAAAGGGGGAGG	62.00
	GNAQ_R 3168	20	GCTGTGTTGTTTGAGGCTGG	
NM_080425	GNAS_F 65	20	CCAAGACTCCACCAGCAACA	62.00
	GNAS_R 164	20	GGCCTCACTTCCAACCCCTT	
NM_000838	GRM1_F 160	20	GGGACCATAGCGCTGTCTAC	62.00
	GRM1_R 314	20	ACAAGCTGGAGGCGTTTGTA	
NM_000844	GRM7_F 2870	20	GTAGTCACAGCAGCCACCAT	62.00
	GRM7_R 2976	20	GGGCTGTTTGGGTCTACGTT	
NM_000201	ICAM1_F 419	20	TCAAAAGTCATCCTGCCCCG	62.00
	ICAM1_R 628	20	AGCTGTTGACTGCCCATCAG	
NM_000576	IL1B_F 634	20	CTGTACCTGTCCTGCGTGTT	62.00
	IL1B_R 788	20	GGGAACTGGGCAGACTCAAA	
NM_002228	JUN_F 1839	20	GCCTCCAAGTGCCGAAAAG	62.00
	JUN_R 2022	20	GCTGCGTTAGCATGAGTTGG	
NM_002229	JUNB_F 991	20	TTCAAGGAGGAACCGCAGAC	62.00
	JUNB_R 1186	20	TGAGCGTCTTCACCTTGTC	
NM_002382	MAX_F 195	20	GGCCGTAGGAAATGAGCGAT	62.00
	MAX_R 272	20	CAGCCGCAGATTGAAACCTC	
NM_004230	S1PR2_F 3082	20	GGCAGTGGCTAGGGACATTT	62.00
	S1PR2_R 3306	20	ACATGAGCAGACAGGACAGC	

NM_002980	SCTR_F 55	20	CCGAGGAGGAGCAGTCCC	62.00
	SCTR_R 278	20	GCAGCACCGGCAGTAGTAG	
NM_000369	TSHR_F 3911	20	ACCTGTGATGATAGCCCCCT	62.00
	TSHR_R 4101	20	TGGGTATGGCTGTGGAGAGA	
NM_001078	VCAM1_F 227	20	TGGGAAGATGGTCGTGATCC	62.00
	VCAM1_R 437	20	CGTCACCTTCCCATTCAAGTG	
NM_031850	AGTR1_F250	20	GGGCGCGGGTTTGATATTG	62.00
	AGTR1_R343	20	ATCTGGTGCCGACTTTCTGG	
NM_000686	AGTR2_F38	20	GTGCTATTACGTCCCAGCGT	62.00
	AGTR2_R235	20	TAGTGGCAAGGGTGGAGTTG	
NM_004313	ARRB2_F 338	20	CTGTAGATGGCGTGGTGCTT	62.00
	ARRB2_R443	20	AGCACATCCAGGTCTTCACG	
NM_000633	BCL2_F 943	20	CTTTGAGTTCGGTGGGGTCA	62.00
	BCL2_R1104	20	GGGCCGTACAGTTCCACAAA	
NM_053056	CCND1_F 719	20	GGCGGAGGAGAACAACAGA	62.00
	CCND1_R899	20	TGTGAGGCGGTAGTAGGACA	
NM_001238	CCNE1_F 986	20	CGCAGTATCCCCAGCAAATC	62.00
318.6	CCNE1_R1150	20	CGCACCCTGATACCCTGAA	
NM_000088	COL1A1_F902	20	CTGGCCTCCCTGGAATGAAG	62.00
	COL1A1_R1119	20	GGCAGCACCAGTAGCACC	
NM_002467	MYC_F 97	20	TGGCGGAAAAAGAACGGAG	62.00
	MYC_R298	20	GAGGCGAAGCCCCCTATTC	
NM_000911	OPRD1_F1067	20	GCCCATCCACATCTTCGTCA	62.00
	OPRD1_R1207	20	TCGAGGAAAGCGTAGAGCAC	
NM_002737	PRKCA_F1898	20	GTGTGGCAAAGGAGCAGAGA	62.00
	PRKCA_R2087	20	GGTGTGTTGTTCTCGCTGGTG	
NM_000963	PTGS2_F1261	20	CCCTTCTGCCTGACACCTTT	62.00
	PTGS2_R1432	20	TTCTGTACTGCGGGTGGAAAC	
NM_002923	RGS2_F108	20	GAGCGAGGAGAAGCGAGAAA	62.00
	RGS2_R212	20	GTTTTGGGCTTCCCAGGAGT	
NM_000539	RHO_F2040	20	AGGCCAAGTTCCCAATGAGG	62.00
	RHO_R2183	20	GCAAAAGAGCAGGTGGCTTC	
NM_001973	ELK4_F 291	20	AGTGGGCAGGATTGAGGGT	62.00
	ELK4_R 527	20	GCCAGTTTCTCGGCTGGATT	
NM_000795	DRD2_F 66	20	CAACGGGTCAGACGGGAAG	62.00
	DRD2_R 306	20	GAATTTCCAACCTACCACC	
NM_003857	GALR2_F 474	20	GCCCTACCTGAGCTACTACC	62.00
	GALR2_R 720	20	GATGAGGATCATGCGTGTCAC	
NM_183357	ADCY5_F1335	20	AGCAGACATCAACGCCAAG	62.00

	ADCY5_R1569	20	GACGCAGTAATAACAATCCCCAA	
NM_000024	ADRB2_F31	20	TTGCTGGCACCCAATAGAAGC	62.00
	ADRB2_R192	20	CAGACGCTCGAACTTGGCA	
NM_138578	BCL2L1_F120	20	GACTGAATCGGAGATGGAGACC	62.00
	BCL2L1_R 298	20	GCAGTTCAAACCTCGTCGCCT	
NM_001901	CTGF_F545	20	ACCGACTGGAAGACACGTTTG	62.00
	CTGF_R739	20	CCAGGTCAGCTTCGCAAGG	
NM_003376	VEGFA_F 99	20	AGGGCAGAATCATCACGAAGT	62.00
	VEGFA_R 173	20	AGGGTCTCGATTGGATGGCA	
NM_000316	PTH1R_F327	20	GCCGGAATGGGACCACATC	62.00
	PTH1R_R542	20	CGTTCACGAGTCTCATTGGTG	
NM_005229	ELK1_F 13	20	TGAGCTGTAGGGAAACGCAG	63.00
	ELK1_R 188	20	GGGTACCTGTGTGTAGCGTG	
NM_000841	GRM4_F 62	20	CTGGGTGTGTGTTAGGGAGG	63.00
	GRM4_R 226	20	GGATGACTGTGGAAAGGGCA	
NM_057159	LPAR1_F 67	20	GCCAGTGAGAGTGTGGGTG	63.00
	LPAR1_R 285	20	CAGATAGGTGGATGGGGAGC	
NM_005226	S1PR3_F 94	20	CAGGGACTCAGGGACCAGAA	63.00
	S1PR3_R 304	20	GCGTTGAAAAAGGGCTCCTC	
NM_000029	AGT_F 2120	20	CAGCCGTTTCTCCTTGGTCT	63.00
	AGT_R2233	20	CTCCCCACCCCATTCTCTA	
NM_020350	AGTRAP_F430	20	CTGCTGCTTCGTCTACCACA	63.00
	AGTRAP_R520	20	GGCACTACGGTCCTGAGAAG	
NM_005163	AKT1_F250	20	GCATCCTGGTCCTGTCTTCC	63.00
	AKT1_R374	20	CGTTTGCTCTCCCTGTCCAT	
NM_000388	CASR_F48	20	CAGGAGAGTGAAGGAGGGA	63.00
	CASR_R147	20	GCCTCCTGTGATGCCTTTCA	
NM_000625	NOS2_F 2912	20	TAGAGGAGTTCCCGTCCCTG	63.00
	NOS2_R3066	20	ATCTCGGGTGTGGTAGGTGA	
NM_004064	CDKN1B_F 332	20	CGTCGGGGTCTGTGTCTTTT	63.00
	CDKN1B_R501	20	CTCCCGTTAGACACTCGCAC	
NM_003879	CFLAR_F112	20	GAGTGCCGGCTATTGGACTT	63.00
	CFLAR_R189	20	GCGCTTCTCTCCTACACCTC	
NM_007026	DUSP14_F 965	20	CTGCTCCCTCTCCACTCTCT	64.00
	DUSP14_R 1070	20	TCCCCTCCCTCCCTATCTCT	
NM_000877	IL1R1_F 3122	20	GACCCTTCTCCTCCTTTGC	64.00
	IL1R1_R 3260	20	GAAGGCTGGAGAGGAAGTCG	
NM_002984	CCL4_F 451	20	CGCAGTTCTGTCCCTTCTC	64.00
	CCL4_R582	20	CAGTGACAGTGGACCATCCC	

NM_000602	SERPINE1_F 268	20	CTTCGGGGTGAGGGTGTTC	64.00
	SERPINE1_R 394	20	CTGCTGGGTTTCTCCTCTG	
NM_004994	MMP9_F100	20	CCTTGTGCTCTCCCTGGAG	64.00
	MMP9_R225	20	GGCCCCAGAGATTCGACTC	
NM_002613	PDPK1_F160	20	CCACCAGCCAGCTGTATGAC	64.00

Tablo A.5. FTY720, F1-12h ve F2-9'un SK-N-SH hücrelerine uygulanması sonucu seçilen genlerin mRNA ekspresyon düzeylerine etkilerinin kat değişim sonuçları. Kırmızı olanlar anlamlı olarak artmakta, mavi renkli olanlar anlamlı olarak azalmaktadır.

Gen	FTY720/EC05	FTY720/EC10	F1-12h/EC05	F1-12h/EC10	F2-9/EC05	F2-9/EC10
ACTB	1 ± 0,02	1 ± 0,04	1 ± 0,01	1 ± 0,01	1 ± 0,02	1 ± 0,02
B2M	1 ± 0,03	1 ± 0,03	1 ± 0,01	1 ± 0,01	1 ± 0,07	1 ± 0,07
YWHAZ	1 ± 0,01	1 ± 0,04	1 ± 0,01	1 ± 0,02	1 ± 0,04	1 ± 0,04
GAPDH	1 ± 0,01	1 ± 0,03	1 ± 0,02	1 ± 0,03	1 ± 0,04	1 ± 0,04
EGR1	-1,40 ± 0,04	-1,70 ± 0,27	-1,11 ± 0,04	-1,24 ± 0,06	-1,15 ± 0,06	-1,52 ± 0,15
VCAM1	-2,89 ± 0,37	-5,62 ± 0,85	-2,10 ± 0,24	-5,46 ± 0,02	-2,65 ± 0,10	-5,77 ± 0,03
ICAM1	-2,55 ± 0,22	-3,69 ± 0,35	-4,96 ± 0,03	-9,56 ± 0,14	-2,20 ± 0,07	-5,47 ± 0,10
JUN	-1,42 ± 0,06	-2,42 ± 0,44	-3,50 ± 0,02	-7,27 ± 0,06	-1,34 ± 0,17	-1,74 ± 0,11
BCL2	-2,20 ± 0,04	-2,63 ± 0,17	-4,06 ± 0,41	-7,82 ± 0,15	-1,31 ± 0,07	-1,49 ± 0,07
CCL2	-3,53 ± 0,08	-8,82 ± 0,81	-1,74 ± 0,05	-8,98 ± 0,16	-2,14 ± 0,07	-4,99 ± 0,11
MYC	-3,40 ± 0,04	-7,01 ± 0,58	-2,79 ± 0,09	-4,31 ± 0,22	-1,40 ± 0,06	-1,74 ± 0,06
BCL2L1	-1,06 ± 0,01	-1,19 ± 0,11	-1,21 ± 0,09	-1,40 ± 0,06	-1,12 ± 0,07	-1,45 ± 0,12
VEGFA	-3,40 ± 0,13	-6,48 ± 0,59	-3,65 ± 0,13	-7,91 ± 0,22	-1,59 ± 0,09	-1,82 ± 0,05
TNF	-1,69 ± 0,28	-10,30 ± 1,28	-3,29 ± 0,12	-7,84 ± 0,24	-2,07 ± 0,13	-4,96 ± 0,09
MMP9	-5,02 ± 0,54	-10,82 ± 0,64	-2,39 ± 0,15	-5,10 ± 0,12	-2,14 ± 0,07	-4,50 ± 0,52
IL1B	-2,19 ± 0,05	-4,54 ± 0,57	-2,36 ± 0,06	-4,78 ± 0,21	-1,23 ± 0,08	-1,52 ± 0,06
PMP22	-2,08 ± 0,12	-3,12 ± 0,27	-1,57 ± 0,10	-4,14 ± 0,18	-2,37 ± 0,09	-5,24 ± 0,20
MAL	-2,01 ± 0,05	-3,68 ± 0,49	-1,15 ± 0,04	-1,35 ± 0,05	-1,18 ± 0,12	-1,37 ± 0,07
PLP1	-1,27 ± 0,03	-1,39 ± 0,06	1,75 ± 0,16	3,42 ± 2,96	2,62 ± 0,14	4,94 ± 0,07
CSF1	-1,66 ± 0,08	-5,79 ± 0,95	-1,33 ± 0,05	-3,00 ± 0,02	-1,18 ± 0,07	-1,37 ± 0,07
CXCL10	-2,90 ± 0,07	-4,69 ± 0,36	-1,57 ± 0,06	-4,72 ± 0,20	-2,53 ± 0,15	-6,11 ± 0,07
FASLG	-2,41 ± 0,04	-3,34 ± 0,21	-1,31 ± 0,02	-1,48 ± 0,04	-1,31 ± 0,10	-1,47 ± 0,02
EDNRA	4,41 ± 0,15	6,73 ± 0,40	4,14 ± 0,17	7,04 ± 0,08	1,35 ± 0,06	1,64 ± 0,10
GPX1	-1,21 ± 0,09	-1,77 ± 0,35	-1,20 ± 0,04	-1,58 ± 0,04	-1,27 ± 0,11	-1,54 ± 0,08
TNFRSF1A	-1,88 ± 0,16	-3,01 ± 0,50	-2,60 ± 0,12	-3,65 ± 0,09	-1,76 ± 0,10	-4,10 ± 0,06
CD44	-2,81 ± 0,12	-4,03 ± 0,30	-1,26 ± 0,07	-1,57 ± 0,06	-1,19 ± 0,09	-1,53 ± 0,10
ITGB2	-3,13 ± 0,07	-5,46 ± 0,51	-1,26 ± 0,02	-1,36 ± 0,03	-1,29 ± 0,06	-1,43 ± 0,05
STAT3	-1,99 ± 0,04	-6,06 ± 0,92	-1,66 ± 0,08	-5,07 ± 0,03	-1,58 ± 0,05	-2,09 ± 0,23
TNFRSF1B	-1,12 ± 0,04	-1,25 ± 0,10	-1,27 ± 0,05	-1,58 ± 0,03	-2,68 ± 0,17	-5,54 ± 0,20
HIF1	-1,12 ± 0,07	-2,60 ± 0,64	-1,14 ± 0,04	-1,26 ± 0,01	-1,19 ± 0,14	-1,51 ± 0,09
NFKB1	-1,52 ± 0,03	-3,09 ± 0,54	-3,39 ± 0,20	-6,92 ± 0,20	-1,69 ± 0,09	-3,70 ± 0,14
ERBB3	1,27 ± 0,04	1,61 ± 0,20	1,43 ± 0,03	2,25 ± 0,03	-1,28 ± 0,11	-1,54 ± 0,09
BAX	-1,07 ± 0,03	-1,18 ± 0,12	-1,24 ± 0,02	-1,36 ± 0,02	1,16 ± 0,04	1,45 ± 0,09
HDAC1	-2,31 ± 0,20	-5,40 ± 0,69	-1,18 ± 0,01	-1,40 ± 0,05	-1,19 ± 0,07	-1,56 ± 0,10
RAF1	-2,38 ± 0,08	-4,48 ± 0,52	-1,51 ± 0,03	-1,67 ± 0,05	-1,26 ± 0,12	-1,56 ± 0,10
APP	-3,97 ± 0,03	-6,96 ± 0,50	-1,13 ± 0,07	-1,52 ± 0,06	-1,33 ± 0,05	-1,51 ± 0,05
MAG	1,94 ± 0,02	3,09 ± 0,47	-1,16 ± 0,03	-1,31 ± 0,07	2,00 ± 0,13	3,98 ± 0,19
PTPN11	-1,07 ± 0,06	-1,18 ± 0,08	1,49 ± 0,03	1,73 ± 0,03	-1,24 ± 0,05	-1,89 ± 0,18

HLA-DRB1	-1,35 ± 0,15	-1,6 ± 0,12	-1,21 ± 0,08	-1,43 ± 0,06	-1,82 ± 0,15	-4,13 ± 0,11
EPHA1	-2,48 ± 0,12	-3,39 ± 0,36	-4,09 ± 0,16	-7,90 ± 0,32	-1,69 ± 0,07	-3,75 ± 0,06
ASPA	-1,34 ± 0,05	-1,52 ± 0,10	-1,29 ± 0,12	-1,49 ± 0,03	-1,15 ± 0,08	-1,40 ± 0,06
IFNG	-1,99 ± 0,10	-4,93 ± 0,86	-1,78 ± 0,16	-3,66 ± 0,21	-1,34 ± 0,05	-1,57 ± 0,04
FOXP3	-1,72 ± 0,22	-3,86 ± 0,47	-1,22 ± 0,04	-1,40 ± 0,03	-1,36 ± 0,07	-1,48 ± 0,05
APC	1,13 ± 0,04	1,20 ± 0,09	-1,20 ± 0,03	-1,10 ± 0,05	-1,32 ± 0,10	-1,53 ± 0,07
TGFB2	-1,39 ± 0,01	-1,88 ± 0,21	-1,30 ± 0,17	-1,84 ± 0,02	-2,19 ± 0,06	-4,98 ± 0,13
MAPK1	-1,25 ± 0,03	-1,34 ± 0,09	-4,30 ± 0,12	-10,55 ± 0,05	-1,31 ± 0,07	-1,55 ± 0,04
FN1	-1,11 ± 0,02	-1,23 ± 0,14	-1,13 ± 0,04	-1,64 ± 0,13	-1,160 ± 0,08	-1,47 ± 0,14
TOP1	-1,06 ± 0,02	-1,23 ± 0,10	-1,22 ± 0,07	-1,53 ± 0,04	-1,21 ± 0,05	-1,46 ± 0,11
CXCR3	-1,41 ± 0,04	-1,60 ± 0,12	-1,72 ± 0,09	-1,89 ± 0,03	-1,37 ± 0,08	-1,61 ± 0,03
CCR5	-1,25 ± 0,02	-1,41 ± 0,14	-1,25 ± 0,05	-1,51 ± 0,09	-1,19 ± 0,06	-1,47 ± 0,08
CXCL9	-1,45 ± 0,06	-1,62 ± 0,15	-1,23 ± 0,07	-1,65 ± 0,05	-2,38 ± 0,06	-4,85 ± 0,06
EZR	-1,32 ± 0,07	-1,48 ± 0,11	-1,18 ± 0,01	-1,64 ± 0,09	-1,22 ± 0,02	-1,66 ± 0,07
GNAI2	-1,06 ± 0,03	-1,15 ± 0,09	-1,40 ± 0,08	-2,37 ± 0,29	-1,12 ± 0,08	-2,75 ± 0,15
HPRT1	1,26 ± 0,08	1,40 ± 0,09	-1,23 ± 0,03	-1,55 ± 0,03	-1,32 ± 0,11	-1,60 ± 0,02
AKT1S1	-1,08 ± 0,02	-1,14 ± 0,06	-1,35 ± 0,04	-1,98 ± 0,03	-1,28 ± 0,06	-1,66 ± 0,10
CD9	-1,13 ± 0,14	-1,40 ± 0,20	-1,19 ± 0,10	-1,53 ± 0,05	-1,16 ± 0,04	-1,39 ± 0,10
CCL3	-2,87 ± 0,07	-3,77 ± 0,25	-1,32 ± 0,08	-1,56 ± 0,04	-2,31 ± 0,22	-5,71 ± 0,11
CCL5	-1,40 ± 0,13	-1,65 ± 0,22	-1,73 ± 0,06	-1,98 ± 0,10	-2,05 ± 0,11	-4,16 ± 0,11
CCL7	-1,49 ± 0,01	-1,67 ± 0,12	-1,68 ± 0,02	-1,82 ± 0,03	-1,21 ± 0,07	-1,48 ± 0,07
CCR1	-1,35 ± 0,03	-1,65 ± 0,14	-1,31 ± 0,06	-1,45 ± 0,07	-1,27 ± 0,10	-1,72 ± 0,03
CXCL11	-1,12 ± 0,04	-1,34 ± 0,10	-1,73 ± 0,06	-3,55 ± 0,04	-1,42 ± 0,06	-1,88 ± 0,10
CD4	-1,15 ± 0,06	-1,39 ± 0,12	-1,13 ± 0,07	-1,41 ± 0,05	-1,14 ± 0,09	-1,41 ± 0,07
CD40	-1,14 ± 0,08	-1,45 ± 0,11	-1,29 ± 0,08	-2,17 ± 0,09	-1,21 ± 0,03	-1,65 ± 0,06
IL2RA	-1,28 ± 0,06	-1,47 ± 0,10	-1,35 ± 0,07	-1,61 ± 0,09	-1,30 ± 0,05	-1,49 ± 0,04
JAK1	-1,27 ± 0,03	-1,47 ± 0,08	-1,30 ± 0,06	-1,59 ± 0,07	-1,26 ± 0,06	-1,50 ± 0,06
GRB2	-1,28 ± 0,05	-1,40 ± 0,14	-1,21 ± 0,06	-1,44 ± 0,02	-1,16 ± 0,08	-1,45 ± 0,07
NR2F1	-1,05 ± 0,03	-1,24 ± 0,08	-1,27 ± 0,07	-1,47 ± 0,06	-1,19 ± 0,06	-1,48 ± 0,14
HEXB	-1,11 ± 0,04	-1,24 ± 0,13	-1,20 ± 0,03	-1,33 ± 0,04	3,27 ± 0,11	2,72 ± 0,06
EDC4	-1,22 ± 0,06	-1,37 ± 0,06	1,59 ± 0,09	1,98 ± 0,03	-1,27 ± 0,12	-1,59 ± 0,07
GFAP	-1,06 ± 0,03	-1,15 ± 0,10	1,59 ± 0,09	2,30 ± 0,13	-1,08 ± 0,04	-1,35 ± 0,07
PHGDH	-1,16 ± 0,01	-1,26 ± 0,07	-1,10 ± 0,05	-1,24 ± 0,06	-1,12 ± 0,03	-1,24 ± 0,07
TUBB4	1,27 ± 0,13	1,50 ± 0,19	1,22 ± 0,04	1,48 ± 0,04	-1,07 ± 0,02	-1,21 ± 0,10
RANGAP1	1,19 ± 0,03	1,37 ± 0,15	1,21 ± 0,06	1,36 ± 0,05	-1,18 ± 0,05	-1,32 ± 0,03
SOD1	1,19 ± 0,12	1,44 ± 0,18	1,23 ± 0,04	1,40 ± 0,04	-1,55 ± 0,08	-3,39 ± 0,12
IL10	-1,81 ± 0,21	-3,68 ± 0,48	-2,89 ± 0,15	-7,74 ± 0,17	-1,91 ± 0,09	-4,60 ± 0,10
IL6ST	-1,33 ± 0,03	-1,53 ± 0,15	-1,51 ± 0,10	-2,18 ± 0,14	-1,25 ± 0,07	-1,59 ± 0,08
NTF3	-1,11 ± 0,06	-1,42 ± 0,25	1,35 ± 0,14	2,08 ± 0,11	-1,15 ± 0,06	-1,36 ± 0,09
C1S	-1,21 ± 0,03	-1,29 ± 0,08	-1,92 ± 0,10	-5,16 ± 0,07	-1,27 ± 0,08	-1,42 ± 0,04
CD28	-1,16 ± 0,01	-1,31 ± 0,08	-1,23 ± 0,03	-1,53 ± 0,08	-1,22 ± 0,04	-1,42 ± 0,11
JAK2	-1,09 ± 0,05	-1,26 ± 0,12	1,20 ± 0,03	1,51 ± 0,06	-1,15 ± 0,06	-1,32 ± 0,06
MBP	-1,13 ± 0,01	-1,29 ± 0,10	1,33 ± 0,07	1,83 ± 0,13	1,25 ± 0,04	1,85 ± 0,02
TGFB1	-1,05 ± 0,04	-1,20 ± 0,09	-1,35 ± 0,10	-1,67 ± 0,04	-2,43 ± 0,07	-5,33 ± 0,06
ADM	1,16 ± 0,05	1,36 ± 0,14	1,17 ± 0,11	1,64 ± 0,13	-1,14 ± 0,06	-1,29 ± 0,06
LTA	-1,12 ± 0,04	-1,30 ± 0,05	-2,35 ± 0,02	-5,19 ± 0,09	-1,18 ± 0,08	-1,52 ± 0,09
IL6	-2,18 ± 0,05	-3,95 ± 0,56	-3,67 ± 0,15	-11,97 ± 0,05	-1,97 ± 0,17	-4,90 ± 0,08
IL13	-1,12 ± 0,03	-1,31 ± 0,03	-1,88 ± 0,15	-6,69 ± 0,13	-1,20 ± 0,10	-1,50 ± 0,07
IL18	-1,10 ± 0,04	-1,54 ± 0,04	-2,51 ± 0,05	-5,11 ± 0,16	-1,19 ± 0,06	-1,65 ± 0,03
SIPR1	-2,20 ± 0,19	-5,88 ± 0,49	-2,04 ± 0,03	-4,30 ± 0,13	-2,09 ± 0,09	-4,23 ± 0,12
SIPR2	-1,33 ± 0,01	-1,40 ± 0,04	-1,13 ± 0,05	-1,27 ± 0,06	-1,18 ± 0,08	-1,58 ± 0,01
SIPR3	-1,33 ± 0,06	-1,55 ± 0,03	-1,65 ± 0,04	-4,00 ± 0,07	-1,90 ± 0,08	-4,51 ± 0,10

GRM1	-2.07 ± 0,02	-4.86 ± 0,08	-3.31 ± 0,07	-5.03 ± 0,14	-1,23 ± 0,06	-1,59 ± 0,10
GRM2	-1,30 ± 0,06	-1,75 ± 0,02	-2,33 ± 0,06	-5,19 ± 0,04	-1,24 ± 0,05	-1,53 ± 0,08
GRM4	-1,39 ± 0,03	-1,60 ± 0,03	-1,20 ± 0,04	-1,44 ± 0,08	-1,20 ± 0,10	-1,49 ± 0,08
GRM5	-2,39 ± 0,06	-5,45 ± 0,05	-1,21 ± 0,09	-1,47 ± 0,13	-1,24 ± 0,05	-1,58 ± 0,07
GRM7	-2,18 ± 0,18	-6,23 ± 0,10	-1,42 ± 0,03	-1,67 ± 0,07	-1,37 ± 0,04	-1,65 ± 0,07
ADORA2A	-2,22 ± 0,29	-8,12 ± 0,30	-2,05 ± 0,07	-5,91 ± 0,04	-1,86 ± 0,09	-4,34 ± 0,07
ADRB1	-1,13 ± 0,04	-1,90 ± 0,11	-1,25 ± 0,04	-1,60 ± 0,15	1,16 ± 0,03	1,46 ± 0,09
ADRB2	-3,44 ± 0,04	-6,80 ± 0,10	-1,97 ± 0,08	-4,35 ± 0,24	-1,36 ± 0,04	-1,51 ± 0,03
DRD1	-1,10 ± 0,06	-1,05 ± 0,53	-1,39 ± 0,14	-1,68 ± 0,05	-1,24 ± 0,11	-1,69 ± 0,05
DRD2	-2,10 ± 0,03	-4,52 ± 0,17	-2,01 ± 0,11	-3,88 ± 0,12	-1,85 ± 0,03	-4,22 ± 0,08
AGTR2	1,33 ± 0,31	3,81 ± 0,11	2,07 ± 0,18	9,08 ± 0,17	1,20 ± 0,05	1,33 ± 0,06
AGTR1	1,21 ± 0,16	1,64 ± 0,09	-1,18 ± 0,06	-1,29 ± 0,03	1,20 ± 0,06	1,44 ± 0,04
OPRD1	2,33 ± 0,10	4,98 ± 0,04	2,66 ± 0,12	3,25 ± 0,09	1,20 ± 0,05	1,61 ± 0,06
PTGDR	-2,01 ± 0,11	-4,40 ± 0,16	-1,22 ± 0,14	-1,67 ± 0,11	-1,23 ± 0,10	-1,66 ± 0,07
RHO	-1,36 ± 0,10	-1,63 ± 0,08	-1,12 ± 0,04	-1,53 ± 0,10	-1,16 ± 0,05	-1,49 ± 0,16
TSHR	-2,54 ± 0,08	-4,41 ± 0,28	-1,28 ± 0,02	-1,52 ± 0,07	-1,26 ± 0,04	-1,38 ± 0,05
CRHR1	-1,04 ± 0,03	-1,18 ± 0,07	1,88 ± 0,05	4,64 ± 0,25	1,22 ± 0,07	1,52 ± 0,08
CRHR2	-1,20 ± 0,11	-1,36 ± 0,03	1,15 ± 0,03	2,35 ± 0,10	1,09 ± 0,03	1,30 ± 0,06
PTH1R	-1,11 ± 0,03	-1,36 ± 0,10	1,20 ± 0,08	1,58 ± 0,09	1,11 ± 0,09	1,40 ± 0,06
BAI	-1,24 ± 0,18	-1,76 ± 0,07	-1,06 ± 0,05	-1,24 ± 0,08	-1,13 ± 0,03	-1,49 ± 0,07
EDN1	-1,22 ± 0,05	-1,35 ± 0,08	2,02 ± 0,18	7,77 ± 0,08	1,23 ± 0,05	1,35 ± 0,08
ADCY5	-2,21 ± 0,6	-5,18 ± 0,10	-2,22 ± 0,13	-4,50 ± 0,15	-2,18 ± 0,16	-4,62 ± 0,10
GNAS	-2,60 ± 0,07	-6,10 ± 0,13	-2,62 ± 0,19	-7,63 ± 0,06	-2,21 ± 0,09	-4,45 ± 0,16
IL1R2	-1,12 ± 0,05	-1,43 ± 0,09	-1,21 ± 0,07	-1,40 ± 0,04	-1,18 ± 0,06	-1,59 ± 0,05
NOS2	-2,48 ± 0,12	-5,99 ± 0,03	-2,43 ± 0,22	-5,16 ± 0,24	-1,19 ± 0,08	-1,60 ± 0,06
RGS2	-1,21 ± 0,08	-1,50 ± 0,05	-1,21 ± 0,04	-1,54 ± 0,10	-1,25 ± 0,08	-1,55 ± 0,08
IL1R1	-1,96 ± 0,20	-2,53 ± 0,08	-1,27 ± 0,06	-1,56 ± 0,09	-1,32 ± 0,07	-1,58 ± 0,03
PTGS2	-1,05 ± 0,06	-1,38 ± 0,14	-1,18 ± 0,07	-1,35 ± 0,05	-1,30 ± 0,07	-1,64 ± 0,07
CYP19A1	-4,24 ± 0,11	-7,21 ± 0,09	-1,89 ± 0,09	-5,60 ± 0,10	-1,37 ± 0,05	-1,48 ± 0,02
COL1A1	-2,34 ± 0,02	-3,73 ± 0,06	-2,20 ± 0,06	-3,84 ± 0,13	-1,30 ± 0,12	-1,53 ± 0,02
CASR	-1,08 ± 0,06	-1,36 ± 0,29	1,41 ± 0,04	1,96 ± 0,03	-1,20 ± 0,09	-1,53 ± 0,13
FGF2	-2,13 ± 0,05	-7,35 ± 0,33	-1,89 ± 0,27	-6,72 ± 0,15	-1,62 ± 0,09	-1,96 ± 0,07
SERPINE1	-1,21 ± 0,03	-1,34 ± 0,09	1,41 ± 0,11	1,55 ± 0,04	-1,27 ± 0,07	-1,45 ± 0,06
FOS	-1,09 ± 0,04	-1,31 ± 0,06	-1,16 ± 0,05	-1,39 ± 0,09	-1,13 ± 0,09	-1,37 ± 0,08
AKT1	-5,40 ± 0,22	-12,27 ± 0,07	-2,06 ± 0,08	-5,31 ± 0,06	-1,22 ± 0,08	-1,52 ± 0,07
CTGF	-1,06 ± 0,09	-1,70 ± 0,05	-1,08 ± 0,14	-1,44 ± 0,21	-1,42 ± 0,09	-1,56 ± 0,03
PDPK1	-1,50 ± 0,03	-1,83 ± 0,09	1,47 ± 0,01	2,36 ± 0,05	-1,26 ± 0,07	-1,39 ± 0,03
AGT	3,06 ± 0,03	5,63 ± 0,12	-1,19 ± 0,04	-1,44 ± 0,09	1,20 ± 0,06	1,35 ± 0,02
CFLAR	-2,12 ± 0,06	-11,03 ± 0,14	-2,00 ± 0,05	-3,31 ± 0,01	-1,18 ± 0,10	-1,36 ± 0,11
CCNE1	-1,23 ± 0,03	-1,41 ± 0,02	-1,22 ± 0,02	-1,43 ± 0,03	-1,17 ± 0,07	-1,37 ± 0,07
CCND1	-1,22 ± 0,05	-1,50 ± 0,18	1,31 ± 0,08	1,66 ± 0,05	-1,15 ± 0,06	-1,36 ± 0,02
CDKN1B	-1,19 ± 0,02	-1,29 ± 0,04	-1,25 ± 0,01	-1,53 ± 0,03	-1,26 ± 0,09	-1,58 ± 0,10
MAX	-1,08 ± 0,01	-1,19 ± 0,08	-1,18 ± 0,01	-1,24 ± 0,02	-1,13 ± 0,02	-1,22 ± 0,02
ARRB1	-1,10 ± 0,02	-1,32 ± 0,11	-1,13 ± 0,04	-1,47 ± 0,07	-1,03 ± 0,08	-1,16 ± 0,09
ARRB2	1,19 ± 0,06	1,43 ± 0,17	1,20 ± 0,06	1,62 ± 0,02	-1,21 ± 0,05	-1,48 ± 0,08
CDKN1A	-1,15 ± 0,08	-1,42 ± 0,05	-1,21 ± 0,08	-1,46 ± 0,04	-1,11 ± 0,09	-1,38 ± 0,09
OPRK1	-1,15 ± 0,04	-1,37 ± 0,05	-1,34 ± 0,08	-1,50 ± 0,05	-1,26 ± 0,13	-1,48 ± 0,06
LHCGR	-1,16 ± 0,07	-1,42 ± 0,04	-1,23 ± 0,09	-1,51 ± 0,06	-1,27 ± 0,05	-1,61 ± 0,06
ELK1	-1,19 ± 0,07	-1,36 ± 0,07	-1,25 ± 0,08	-1,43 ± 0,06	-1,23 ± 0,05	-1,46 ± 0,10
CCNE2	-1,20 ± 0,06	-1,42 ± 0,11	-1,46 ± 0,10	-1,69 ± 0,06	-1,15 ± 0,05	-1,45 ± 0,10
PIK3CG	-3,72 ± 0,26	-5,73 ± 0,08	-2,27 ± 0,18	-7,71 ± 0,28	-1,49 ± 0,11	-1,79 ± 0,13
SOCS1	-1,14 ± 0,03	-1,36 ± 0,07	-1,39 ± 0,02	-1,83 ± 0,08	-1,18 ± 0,09	-1,38 ± 0,02

UCP1	-1,33 ± 0,05	-1,52 ± 0,11	-1,22 ± 0,03	-1,32 ± 0,04	-1,38 ± 0,06	-1,51 ± 0,06
IL2	-1,06 ± 0,05	-1,14 ± 0,04	-2,78 ± 0,13	-4,92 ± 0,24	-1,11 ± 0,12	-1,67 ± 0,06
LPAR2	-1,28 ± 0,03	-2,12 ± 0,08	-1,22 ± 0,09	-1,47 ± 0,13	-1,33 ± 0,20	-1,62 ± 0,07
LPAR1	-1,34 ± 0,03	-1,56 ± 0,059	-1,64 ± 0,24	-2,29 ± 0,11	-1,40 ± 0,08	-1,57 ± 0,05
AGTRAP	-1,43 ± 0,05	-1,61 ± 0,06	-1,30 ± 0,05	-1,51 ± 0,06	-1,21 ± 0,06	-1,38 ± 0,05
GCCR	-1,17 ± 0,03	-1,30 ± 0,03	-1,56 ± 0,06	-1,83 ± 0,04	-1,23 ± 0,06	-1,57 ± 0,10
SCTR	-1,19 ± 0,10	-1,40 ± 0,08	-1,40 ± 0,04	-1,95 ± 0,25	-1,09 ± 0,03	-1,28 ± 0,08
GNAQ	-1,21 ± 0,10	-1,44 ± 0,08	-1,18 ± 0,08	-1,65 ± 0,01	1,37 ± 0,46	1,44 ± 0,12
GALR2	1,34 ± 0,06	1,55 ± 0,11	-1,44 ± 0,05	-1,60 ± 0,02	-1,23 ± 0,08	-1,39 ± 0,06
ELK4	1,54 ± 0,03	1,78 ± 0,14	-1,16 ± 0,02	-1,41 ± 0,04	-1,16 ± 0,07	-1,36 ± 0,06
PRKCA	1,78 ± 0,15	2,12 ± 0,07	1,61 ± 0,03	1,41 ± 0,07	-1,20 ± 0,08	-1,35 ± 0,08
DUSP14	-1,43 ± 0,02	-1,77 ± 0,03	-1,43 ± 0,07	-1,63 ± 0,05	-1,20 ± 0,11	-1,49 ± 0,10
CALCR	-1,24 ± 0,09	-1,48 ± 0,03	-1,20 ± 0,06	-1,50 ± 0,09	-1,24 ± 0,10	-1,51 ± 0,14
CCL4	-1,13 ± 0,08	-1,33 ± 0,12	-1,33 ± 0,05	-1,60 ± 0,11	-1,37 ± 0,09	-1,61 ± 0,10
MAP2K1	-1,20 ± 0,07	-1,47 ± 0,09	-1,31 ± 0,15	-1,60 ± 0,07	-1,18 ± 0,08	-1,48 ± 0,08
JUNB	-1,16 ± 0,04	-1,23 ± 0,06	-1,20 ± 0,07	-1,68 ± 0,02	-1,20 ± 0,06	-1,49 ± 0,06

EK B

Adenilat siklaz 5 (ADCY5)

Bu gen, membrana bağlı adenilat siklaz enzimlerinin bir üyesini kodlar. Adenozin-5'-trifosfatı (ATP), 3',5'-adenozin monofosfata (siklikAMP/cAMP) dönüştüren bir enzim grubudur. Adenilat siklazın on farklı memeli izoformu vardır, dokuzu zarlara bağlıdır. Adenilat siklazlar, ikinci haberci cAMP sentezi yoluyla G proteinine bağlı reseptör sinyaline aracılık etmektedir. Kodlanan proteinin aktivitesi, G proteinine bağlı reseptörlerin Gs alfa alt birimi tarafından uyarılır ve protein kinaz A, kalsiyum ve G α alt birimleri tarafından engellenir. Bu genin tek nükleotid polimorfizmleri tip 2 diyabet ile ilişkili olabilir. G protein sinyalizasyonuna yanıt olarak cAMP oluşumunu katalize eder (Ding ve diğ. 2004; Brand ve diğ. 2015; Chen ve diğ. 2014). ADRB1'in sinyalizasyonunu düzenler (Chen ve diğ. 2014). Artmış kan glikoz düzeylerine yanıt olarak serbest sitosolik Ca⁺² artışına bağımlı insülin salınımının düzenlenmesine katkıda bulunur (Hodson ve diğ. 2014).

Adenozin A2a Reseptör (ADORA2A)

Bu gen, GPCR süper ailesinin bir üyesini kodlar (Jaakola ve diğ. 2008). Adenozin A2A reseptörleri, A1, A2B ve A3'ü de içeren G proteini ile birleşmiş reseptörlerin adenozin reseptör grubunun üyesidir. A2A reseptörleri, dalak, timus, lökositler, kan trombositlerinde yüksek ekspresyon seviyeleri gösterir. Aslında gangliyonlarda ve bağışıklık dokularında eksprese edilen A2A adenozin reseptörü, adenilat siklaz aktifleştirerek aktivite gösterir. A2A alt tipinin bir adenozin reseptörü olan bu protein, tercih edilen endojen agonist olarak adenozini kullanır ve tercihen G proteinlerinin Gs ailesi ile etkileşerek hücre içi cAMP seviyelerini arttırır (Raskovalova ve diğ. 2005). Kardiyak ritmi ve dolaşım, beyin ve böbrek kan akışı, bağışıklık fonksiyonu, ağrı kontrolü ve uyku gibi birçok biyolojik fonksiyonda önemli bir rol oynar (Retey ve diğ. 2007). Enflamatuvar hastalıklar ve nörodejeneratif bozukluklar gibi patofizyolojik koşullarla ilişkilendirilmiştir (Riksen ve diğ. 2007).

Adrenerjik Beta-2- Yüzey Reseptörü (ADRB2)

Bu reseptör, kalsiyum kanalı efektörlerinden biriyle doğrudan ilişkilidir. Reseptör kanal kompleksi, G proteini, adenilat siklaz, cAMP-bağımlı kinaz ve dengeleyici fosfataz PP2A içerir. Sinyal kompleksinin bir araya getirilmesi, bu G proteinine bağlı reseptör ile spesifik ve hızlı sinyal vermeyi sağlayan bir mekanizma sağlar. Astım, obezite ve tip 2 diyabet ile farklı polimorfik formlar, nokta mutasyonları bu genin düzenlenmesi ile ilişkilidir (Mishra ve diğ. 2010; Gaffin ve diğ. 2014). İlgili yolları arasında peptid ligand-bağlama reseptörleri ve kardiyak hipertrofi bulunmaktadır. Beta-adrenerjik reseptörler, G proteinlerinin etkisi ile adenilat siklazın katekolaminin indüklediği aktivasyona aracılık eder. Beta-2-adrenerjik reseptör, epinefrini, norepinefrinden yaklaşık 30 kat daha afinite ile bağlar. MSS, kalp, böbrek ve kasta bulunur.

Anjiyotensinojen (AGT)

Pre-anjiyotensinojen veya anjiyotensinojen öncüsü bu gen tarafından kodlanan protein karaciğerde eksprese edilir ve kan basıncının düşürülmesine tepki olarak renin enzimi tarafından ayrılır. Nihai ürün olan anjiyotensin I, daha sonra fizyolojik olarak aktif enzim anjiyotensin II üretmek üzere anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) ile ayrılır. Kan basıncının düzenlenmesinde ve hipertansiyonda yer alır. Bu gendeki mutasyonlar, hipertansiyona yatkınlıkla ilişkilidir ve renal tübüler gelişimin ciddi bir bozukluğu olan renal tübüler disjenezine neden olabilir (Watkins ve diğ. 2010). Bu gendeki bozukluklar aynı zamanda ailevi olmayan yapısal atriyal fibrilasyon ve inflamatuvar bağırsak hastalığı ile de ilişkilendirilmiştir. Bu genin önemli bir paralogu SERPINH1'dir. Renin-anjiyotensin sisteminin (RAS) temel bileşeni, tansiyon, vücut sıvısı ve elektrolit homeostazının güçlü bir düzenleyicisidir (Kobashi ve diğ. 2009). Anjiyotensin-2, güçlü bir vazokonstriktör olarak vasküler düz kas üzerine doğrudan etki eder, sempatik sinir sistemine etki ederek kalp kontraktilesini ve kalp atış hızını etkiler ve adrenal korteks zona glomerulosa hücrelerini uyarabilme yeteneği sayesinde renal sodyum ve su absorpsiyonunu değiştirir. Anjiyotensin-3, aldosteron salınımını uyarır. Anjiyotensin 1-7, vazodilatatör ve antidiüretik etkileri vardır. Trombositlerden nitrik oksidin salınımını içeren bir antitrombotik etkisi vardır.

Anjiyotensin II Reseptör Tip 2 (AGTR2)

Bu gen tarafından kodlanan protein, GPCR ailesine aittir ve anjiyotensin II için bir reseptör görevi görür. Fetüste yüksek oranda ifade edilen, ancak yetişkin dokularda oldukça az bulunan, beyin, adrenal medulla ve atretik ovaryum haricindeki, intergral membran proteindir. Bu reseptörün programlanmış hücre ölümüne aracılık ettiği gösterilmiştir ve bu apoptotik fonksiyon gelişim biyolojisi ve patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (Pickel ve diğ. 2010). Bu gendeki mutasyonlar, X bağlantılı mental retardasyon ile ilişkilidir. AGTR2 ile ilişkili hastalıklar sendroma bağlı olmayan X bağlantılı zihinsel engellilik ve ailesel vezikoüreteral reflü içerir. İlgili yolları arasında peptid ligand-bağlama reseptörleri ve kardiyokhipertrofi bulunmaktadır (Sotoodehnia ve diğ. 2009). GPCR aktivitesi ve peptit hormonu bağlanma aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu AGTR1'dir. ERK2 aktivasyonunu ve hücre proliferasyonunu inhibe etmek için MTUS1 geni ile birlikte çalışır (Okada ve diğ. 2006). Öncelikle beyinde, adrenal medullada, kalpte ve rahimde bulunurlar.

V-Akt Murin Timoma Viral Onkogen Homoloğu 1 (AKT1)

AKT1 geni tarafından kodlanan serin-treonin protein kinaz, fibroblastlarda katalitik olarak inaktiftir. AKT1 ve ilgili AKT2 platelet kaynaklı büyüme faktörü tarafından aktive edilir. Aktivasyon hızlı ve spesifiktir. Aktivasyonun, fosfatidilinositol 3-kinaz yoluyla meydana geldiği gösterilmiştir (Martelli ve diğ. 2006). Gelişmekte olan sinir sisteminde AKT, büyüme faktörünün neden olduğu nöronal sağ kalım için kritik bir araçtır (Zhao ve diğ. 2006). Hayatta kalma faktörleri, apoptotik bileşenleri fosforiller ve serin/treonin kinaz AKT1'i aktive ederek apoptozisi bastırabilir. Bu gendeki mutasyonlar Proteus sendromuyla ilişkilendirilmiştir (Lindhurst ve diğ. 2011). AKT1, AKT kinazı adı verilen metabolizma, proliferasyon, hücre sağ kalımı, büyüme ve anjiyogenez gibi birçok işlemi düzenleyen yakından ilişkili üç serin/treonin protein kinazından (AKT1, AKT2 ve AKT3) biridir. AKT, hücre yüzeyine SLC2A4/GLUT4 glikoz taşıyıcısının insülin kaynaklı translokasyonuna aracılık ederek glikoz alımının düzenlenmesinden sorumludur (Cong ve diğ. 1977). PTPN1'in Ser-50'deki fosforilasyonu, insülin reseptörünün fosforilasyonunu ve insülin sinyalizasyonundaki zayıflamayı önleyen fosfataz aktivitesini negatif olarak modüle eder (Ravichandran ve diğ. 2001).

TBC1D4'ün fosforilasyonu, bu efektörün insülinle uyarılan glikoz taşınması için gerekli inhibitör 14-3-3 proteinlerine bağlanmasını tetikler. AKT ayrıca GSK3A'nın Ser-21'de ve GSK3B'nin Ser-9'da fosforilatlanmasıyla glikozun depolanmasını düzenleyerek onun kinaz aktivitesinin inhibisyonunu sağlar (Fang ve diğ. 2009). AKT, TSC2'yi Ser-939 ve Thr-1462'de fosforilatlayarak protein sentezine aracılık eder (Zhang ve diğ. 2009). Böylece mTORC1 sinyalini aktive eder ve hem 4E-BP1 hem de fosforilasyona ve RPS6KB1'in aktivasyonuna yol açar. AKT, NFkB'ye bağımlı gen transkripsiyonunun düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir ve CREB1'in (cAMP cevap elemanı bağlama proteini) etkinliğini pozitif olarak düzenler. CREB1'in fosforilasyonu, BCL2 ve MCL1 gibi genlerin transkripsiyonu için gerekli yardımcı proteinlerin bağlanmasını indükler (Wang ve diğ. 2010). Siklik nükleotid fosfodiesterazı (PDE3B) 3B izoformunu Ser-273'ün fosforilasyonu yoluyla aktive eder, böylece cAMP seviyeleri düşürülür ve lipoliz inhibisyonu meydana gelir (Kitamura ve diğ. 1999). AKT, nöron gelişimi, dendritik gelişim ve sinaps oluşumu gibi erişkin nörogenez sırasında yeni doğan nöronlarının entegrasyon sürecini kontrol eden AKT sinyal yolunun anahtar modülatörü olarak rol oynamaktadır (Yu ve diğ. 2005). Trombosit türevi büyüme faktörü (PDGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü I (IGF) gibi çeşitli büyüme faktörlerinin etkilerine aracılık eder. AKT, IGF-I'in antiapoptotik etkilerine aracılık eder (Romashkova ve diğ. 1999). BAD'ın fosforilasyonu pro-apoptotik etkinliği uyarır. Akt (Protein kinaz B, PKB) hücre sağ kalımı, insülin sinyali, anjiyogenez ve tümör oluşumunun düzenlenmesinde anahtar rol oynayan bir serin/treonin kinazdır.

Amiloyid Beta (A4) Prekorsör Protein (APP)

Bir hücre yüzey reseptörü olarak çalışan amiloyid beta prekorsör protein nöronların yüzeyinde nöronal adhezyon, aksonogenez ve nörit büyüme ile ilgili fizyolojik işlevleri yerine getirmektedir (Kamenetz ve diğ. 2003). Protein-protein etkileşimleri ile hücre hareketliliği ve transkripsiyon düzenlenmesinde rol alır. APBB1-KAT5'e bağlanarak transkripsiyon aktivasyonunu indükler ve Notch sinyal yolağını inhibe eder (Hartmann ve diğ. 2001). Kinesin membran reseptörü gibi görev yaparak beta-sekretaz ve presenilin 1 aracılığı ile aksonal transportun düzenlenmesinde rol alır. *In vitro* koşullarda doğrudan ya da Cu⁺² aracılı LDL oksidasyonu ile nöronal ölümü indüklediği gösterilmiştir (Dias ve diğ. 2014). Heparin, kollajen I ve IV gibi hücre dışı matris bileşenlerine bağlanmak suretiyle

nörit büyümesini düzenlediği de bildirilmiştir. DISEASE veri bankasında bu protein ile ilişkili olarak bildirilen hastalıklar şunlardır: Alzheimer, amiloidoz nörodejeneratif hastalıklar, toksikensefalopati, down sendromu, akciğer kanseridir. Bu proteinin bir metabolizma ürünü olan amiloid β protein Alzheimer hastalığında oluşan amiloid plakların ana bileşenidir (O'Brien ve Wong 2011). APP'nin *in vitro* koşullarda nöronal ölümü indüklediği gösterilmiştir.

B-Hücreli CLL/Lenfoma 2 (BCL2)

Bu gen, lenfositler gibi bazı hücrelerin apoptotik ölümünü bloke eden integral bir dış mitokondrial membran proteinini kodlar. BCL2'nin yapısal ifadesi, foliküler lenfomanın nedeni olarak düşünülmektedir. Faktöre bağlı lenfomatojenik ve sinir hücreleri de dâhil olmak üzere çeşitli hücre sistemlerinde apoptozu baskılamaktadır. Mitokondriyal membran geçirgenliğini kontrol ederek hücre ölümünü düzenler. Hem sitokromun mitokondriyen salınmasını önleyerek, hem de apoptoz aktivasyon faktörüne (APAF-1) bağlanarak kaspaz aktivitesini inhibe eder. NLRP1-inflamazom aktivasyonunu, dolayısıyla CASP1 aktivasyonunu ve IL1B salınımını bozarak zayıflatabilir (Bruey ve diğ. 2007). Bcl-2 proteinleri, programlanmış hücre ölümüne veya apoptozise katkıda bulunur. Bu büyük bir protein ailesidir ve tüm üyeler, en azından dört Bcl-2 homoloji alanından birini ihtiva etmektedir.

Kompleman Bileşen 1 (C1s)

Bu gen, tamamlayıcı C1 alt bileşeninin önemli bir unsuru olan bir serin proteazı kodlar. C1s, serum komplement sisteminin ilk bileşenini elde etmek için C1r ve C1q olmak üzere diğer iki tamamlayıcı bileşenle ilişkilidir. C1S ile ilişkili hastalıklar, klasik bileşen yolak komplement eksikliği nedeniyle C1s eksikliği ve immün yetmezlik içerir. İlgili yolları arasında boğmaca ve immün yanıt lektin kompleman yolu tetiklenir (Rossi ve diğ. 2005). Kalsiyum iyonu bağlama ve serin tipi endopeptidaz aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu MASP1'dir.

Kemokin (C-C motif) Ligandı 2 (CCL2)

Bu gen, kromozom 17'nin q-kolu üzerinde kümelenmiş birkaç sitokin geninden biridir. Kemokinler, bağışıklık düzenleyici ve inflamatuvar süreçlerde bulunan salgılanmış proteinlerin süper aileleridir. Süper aile, olgun peptidin N-

terminal sistein kalıntılarının düzenlenmesine dayanan dört alt gruba bölünmüştür. Bu kemokin, iki bitişik sistein kalıntısı ile karakterize edilen CC altfamilyasının bir üyesidir. Monosit ve bazofiller için kemotaktik aktivite gösterir, ancak nötrofiller veya eozinofiller bu aktiviteyi göstermezler (Patel ve diğ. 2012). Sedef hastalığı, romatizmal artirit ve ateroskleroz gibi monositik infiltratlarla karakterize edilen hastalıkların patogeneğinde rol oynar. Aterosklerozun hastalık süreci boyunca monositlerin arteriyel duvara girmesine katılabilir (Alonso-Villaverde ve diğ. 2010). Kemokin reseptörleri CCR2 ve CCR4'e bağlanır. Protein kinaz aktivitesine sahiptir ve heparin bağlanma yeri vardır. Bu genin önemli bir paralogu CCL7'dir.

Kemokin (C - C motifi) Ligandı 3 (CCL3)

Bu lokus küçük bir indüklenebilir sitokini temsil eder. Makrofaj enflamatuar protein 1 alfa olarak da bilinen şifrelenmiş protein, CCR1, CCR4 ve CCR5 reseptörlerine bağlanarak iltihap tepkilerinde rol oynar. Bu lokustaki polimorfizmler insan immün yetmezlik virüsü tip 1'in enfeksiyona karşı direnci ve yatkinlığı ile ilişkili olabilir (Zhao ve diğ. 2007). CD8⁺ T hücreleri tarafından üretilen en büyük HIV süpresyon faktörlerinden biridir. CCL3 ile ilişkili hastalıklar arasında HIV-1 ve romatoid artrit bulunmaktadır. Rekombinant MIP-1-alfa, HIV-1, HIV-2 ve simian immün yetmezlik virüsünün (SIV) farklı suşlarının doz bağımlı bir inhibisyonunu indükler. Özdeş protein bağlama ve kinaz aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu CCL3'dür.

Kemokin Ligand 5 (CCL5)

Bu gen, kromozom 17'nin q-kolu üzerinde kümelenmiş birkaç kemokin geninden biridir. CC alt ailesi üyesi olan bu kemokin, kan monositleri, bellek T yardımcı hücreleri ve eozinofiller için bir kemoatraktan olarak işlev görür. Bazofillerden histamin salınmasına ve eozinofillerin aktivasyonuna neden olur. Bu sitokin, CD8⁺ hücreleri tarafından üretilen en büyük HIV süpresyon faktörlerinden biridir. CCR1, CCR3, CCR4 ve CCR5 de dâhil olmak üzere birçok kemokin reseptörünü aktive edebilir. Rekombinant RANTES proteini, HIV-1, HIV-2 ve simian immün yetmezlik virüsünün (SIV) farklı suşlarının doz bağımlı bir inhibisyonunu indükler. İşlenmiş form RANTES (3-68) doğal bir kemotaksis inhibitörü gibi davranır ve HIV-1 enfeksiyonunun daha güçlü bir inhibitörüdür. İkinci işleme biçim olan RANTES (4-68), RANTES (1-68) ve RANTES (3-68) ile

karşılaştırıldığında kemotaktik ve HIV-baskılayıcı etkinliğin azalmasına ve monosit ve nötrofillerle ilişkili tanımlanamayan bir enzim tarafından üretildiğine işaret etmektedir (Capoulade-Métay ve diğ. 2006; Kameyoshi ve diğ. 1992; Cocchi ve diğ. 1995; Proost ve diğ. 1998, Lim ve diğ. 2005). Ayrıca, inositol trisfosfat üretimini ve aktivasyonu yoluyla kalsiyum mobilizasyonunu uyan GPCR, GPR75'in bir agonisti olabilir. GPR75 ile birlikte PI3, Akt ve MAP kinazları içeren bir akış sinyal yolunun aktivasyonu yoluyla nöronun sağ kalımında rol oynayabilir. GPR75'yi aktive ederek, insülin sekresyonunda rol oynayabilir (Liu ve diğ. 2013). MS hastalığı için bir markır proteindir. CCL5 geninden ekspres edilir. Hastalık patogenezinde sinir sisteminde inflamatuvar tepkinin artmasına neden olur. Kontrol değerleri ile karşılaştırıldığında hastalıkta ekspresyon düzeyinin arttığına dair veriler literatürde mevcuttur (Iarlori ve diğ.; 2000). Demiyelinizan hastalıklarda CCL5 dâhil, sitokinler inflamatuvar süreci arttırlar. CCL5'in ayrıca MS hastalığında plak oluşumunda da rol oynadığını gösterir veriler yine literatürde mevcuttur (Simpson ve diğ. 1998).

CD44 Molekülü (CD44)

Bu gen tarafından kodlanan protein, hücre-hücre etkileşimleri, hücre adezyonu ve göçünü kapsayan bir hücre yüzeyi glikoproteinidir. Hyalüronik asit (HA) için bir reseptördür ve osteopontin, kolajenler ve matris metalloproteinazlar (MMP'ler) gibi diğer ligandlarla etkileşime girebilir (Ventorp ve diğ. 2016). HA ile yapışma, hücre göçü, tümör büyümesi ve progresyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Bu protein lenfosit aktivasyonu, hematopoez ve tümör metastazı gibi çok çeşitli hücre fonksiyonlarına katılır. Bu genin transkriptleri, birçok işlevsel açıdan farklı izoformları vardır ancak bu varyantların bazılarının tam uzunlukta yapısı belirlenmemiştir. Alternatif splay, bu proteinin yapısal ve fonksiyonel çeşitliliğinin temelini oluşturur ve tümör metastazıyla ilişkili olabilir. SMAD3'ün FOXP3 promoterine bağlanmasını artırır, FOXP3 ekspresyonunun düzenlenmesine ve arttırılmış düzenleyici T hücre stabilitesine yol açar (Sanmartín ve diğ. 2016). CD44 ile ilişkili hastalıklar, intraktal papilloma ve yüzeyel keratit'tir. İlgili yolları arasında Wnt sinyal yolağı, trombosit aktivasyon ve sinyalizasyonu vardır. Transmembran sinyalleme reseptör aktivitesi ve sitokin reseptör aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu LYVE1'dir.

CASP8 ve FADD Benzeri Apoptoz Regülatörü (CFLAR)

Bu gen tarafından kodlanan protein, apoptozun bir düzenleyicisidir ve yapısal olarak kaspaz-8'e benzerdir. Bununla birlikte, kodlanmış protein kaspaz aktivitesinden yoksundur (Apelbaum ve diğ. 2013). CFLAR ile ilişkili hastalıklar arasında nodüler lenfosit başlıca hodgkin lenfoması ve koroid plexus papilloma bulunur. Protein kompleksi bağlama ve sistein tipi peptidaz aktivitesini içerir. Memeli hücrelerinde hücre sağ kalımı ve hücre ölüm yolları arasında hayati bir bağ görevi görebilir. TNFRSF6'nın aracılık ettiği apoptozun bir inhibitörü gibi davranır (He ve He 2013). Bir proteolitik fragman (p43), muhtemelen ölüme neden olan sinyalleme kompleksinde (DISC) tutulur ve böylece kompleksteki kaspaz-8'in işlevini bloke eder. Apoptozu indükler veya TNFRSF ile tetiklenen apoptozu engellemektedir.

Kollojen Tip1, Alfa 1 (COL1A1)

Tip I kollajen, grup I kollajen (fibriler oluşturan kollajen) üyesidir. Bu gen üçlü helezoni iki alfa1 zinciri ve bir alfa 2 zinciri içeren tip I kollajen'in alfa-1 zincirlerini kodlar. Tip I, çoğu bağ dokusunda bulunan fibril oluşturan bir kollajendir ve kemik, kornea, dermis ve tendonda bol miktarda bulunur. Bu gendeki mutasyonlar osteogenezis imperfecta tip I-IV, ehlers-danlos sendromu tip VIIA, Ehlers-Danlos sendromu ve idiyopatik osteoporoz ile ilişkilidir. Bu genin bulunduğu 17 ve 22 numaralı kromozomlar arasındaki karşılıklı translokasyonlar, büyüme faktörünün düzensiz ekspresyonundan kaynaklanan, dermatofibrosarcoma protuberans adı verilen belirli bir cilt tümörü tipi ile ilişkilidir. İlgili yolları arasında integrin yolağı ve trombosit toplama inhibitörü yolağı bulunmaktadır (El-Hoss ve diğ. 2014). Özdeş protein bağlama ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü bağlanma bölgesi içerir. Bu genin önemli bir paralogu COL2A1'dir.

Kortikotropin Salıcı Hormon Reseptörü 1 (CRHR1)

Bu gen, hipotalamus-hipofiz-adrenal yolağın başlıca düzenleyicileri olan kortikotropin serbest bırakma hormonu ailesinin nöropeptidlerini bağlayan bir proteini kodlar. Kodlanmış protein stres, çoğalma, bağışıklık yanıtı ve obezite gibi çeşitli fizyolojik süreçleri düzenleyen sinyal iletim yollarının aktivasyonu için gereklidir. CRHR1 ile ilişkili hastalıklar anksiyete bozukluğu ve bağırsak

sendromu'dur. İlgili yolları arasında peptit ligand-bağlama reseptörleri ve myometrial rahatlama ve kasılma yolları bulunmaktadır. Bu genin önemli bir paralogu CRHR2'dir. CRH ve UCN (ürokortin) için yüksek afiniteye sahiptir. Ligand bağlanması, guanin nükleotid-bağlayıcı proteinler ve adenilat siklaz gibi efektörleri aracılığıyla konformasyon değişikliğine neden olur (Vergetaki ve diğ. 2013). Artan hücre içi cAMP düzeylerine yol açan adenilat siklaz aktivasyonunu destekler (Xiong ve diğ. 2014). Kalsiyum kanalının etkinliğini inhibe eder. Adrenal bezin normal embriyonik gelişimi ve strese normal hormonal tepkiler için gereklidir. Anksiyojenik uyarılara yanıtta rol oynar. MSS'de bol miktarda korteks, serebellum ve hipokampusta ifade edilir.

Koloni Uyarıcı Faktör 1 (CSF1)

Bu gen tarafından kodlanan protein hematopoietik öncü hücrelerin, bilhassa makrofajlar ve monositler gibi mononükleer fagositlerin sağ kalımı, çoğalması ve farklılaşmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan sitokindir. Proteinin aktif formu bir disülfid bağlantılı homodimer olarak ekstraselüler olarak bulunur ve membrana bağlı prekürsörlerin proteolitik bölünmesiyle üretildiği düşünülür. Kodlanmış protein, plasentanın gelişimine karışabilir. Protein homodimerizasyon aktivitesi ve büyüme faktörü aktivitesini içerir (Pandit ve diğ. 1992). Proinflamatuvar kemokinlerin salınımını teşvik eder ve bu nedenle doğuştan gelen bağışıklıkta ve inflamatuvar süreçlerde önemli bir rol oynamaktadır. Osteoklast çoğalması ve farklılaşmasının düzenlenmesinde, kemik rezorpsiyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve normal kemik gelişiminde gereklidir (Wang ve diğ. 2010). Aktin sitoskeletonin yeniden düzenlenmesini teşvik eder, hücre adezyonunu ve hücre göçünü düzenler.

Sitokrom P450, Aile 19, Alt Aile A, Polipeptit 1 (CYP19A1)

CYP19A1, enzimlerin sitokrom P450 süper ailesinin bir üyesini kodlar. Sitokrom P450 proteinleri, ilaç metabolizması, kolesterol, steroidler ve diğer lipidlerin sentezinde yer alan birçok reaksiyonu katalizleyen monooksijenazlardır. Bu protein, endoplazmik retikulumu lokalizedir ve östrojen biyosentezinin son aşamalarını katalize eder (Ghosh ve diğ. 2009). Bu gen içindeki mutasyonlar, aromataz aktivitesinde artışa ya da azalmaya neden olabilir. İlişkili fenotipler, östrojenin hem cinsiyet steroid hormonu hem de büyüme veya farklılaşma işlevleri

olduğunu düşündürmektedir. CYP19A1 ile ilişkili hastalıklar aromataz eksikliği ve aromataz fazlalığı ile ilgili meme kanserini içerir (Wang ve diğ. 2010). İlgili yolları arasında steroid hormon metabolizması ve aromataz inhibitör yolağı bulunmaktadır. Demir iyonu bağlama bölgesi ve elektron taşıyıcı aktivitesini içerir.

Kemokin (C-X-C Motifi) Ligandı 10 (CXCL10)

Bu gen, CXC alt familya üyesi bir kemokin kodlar ve CXCR3 reseptörünün bir ligandır. Bu proteinin CXCR3 reseptörüne bağlanması doğal öldürücü (NK) ve T hücrelerinin göçü, adezyon moleküllerinin ifadelerinin modülasyonu monositlerin aktivasyonu gibi pleiotropik etkiler ile sonuçlanır. DISEASE veri bankasında bu protein ile ilişkili olarak bildirilen hastalıklar şunlardır: MS, tüberküloz, aşırı duyarlılık reaksiyonu tip II hastalığı, ensefalit, kanser, astım, grip, şiddetli akut solunum yolu sendromu, hepatit C, pnömoni, dermatit ve artrit'dir. İnflamasyonla seyreden hastalıklarda kemokinlerin çok önemli görevleri vardır. İnflamasyonda kemokinler lökositlerin kandan dokuya geçişine ve inflamasyonun bulunduğu yerde birikimine ve aktivasyonuna yol açar. MS'de kan beyin bariyeri bozulur ve bu durum lezyon bölgesine periferik lökosit infiltrasyonuna neden olur. CXCL10, CXCR3'ün nöronlardaki ligandır ve MS hastalığında ekspresyonu artar (Booth ve diğ. 2002; Szczucinski ve Losy 2011).

Kemokin (C-X-C Motifi) Ligandı 11 (CXCL11)

Kemokinler GPCR'lerin bir alt kümesiyle etkileşim yoluyla çeşitli lökosit türlerinin hücre göçünü düzenleyen, küçük (yaklaşık 8 ila 14 kD) bir gruptur. Kemokinler bağışıklık sisteminin gelişimi, homeostazı ve fonksiyonunda temel rol oynarlar ve merkezi sinir sisteminin hücrelerinde olduğu kadar anjiyogenezde rol oynayan endotel hücreleri üzerinde de etkileri vardır. Kemokinler, CXC ve CC olmak üzere 2 ana altfamilyaya bölünürler. Bu gen, kemokin süper ailesinin bir CXC üyesidir. Kodlanmış proteini, aktive T hücrelerinde kemotaktik bir yanıtı neden olur ve CXCR3'ün dominant ligandır. Bu proteini kodlayan gen, ekspresyonun hücreye spesifik düzenlenmesini yansıtabilecek 4 ekzon ve en az 3 poliadenilasyon sinyali içerir. IFNG, bu genin transkripsiyonunda güçlü bir uyarıcıdır (Laich ve diğ. 1999). Heparin bağlama ve CXCR3 kemokin reseptör bağlanma bölgesi içerir (Booth ve diğ. 2004). İnterlökin ile aktive edilmiş T hücreleri için kemotaktiktir, ancak uyarılmamış T hücreleri, nötrofiller ya da monositler için kemotaktik değildir. Aktive

edilmiş T hücrelerinde kalsiyum salınımı indükler. MSS hastalıklarında önemli rol oynayabilir.

Kemokin (C-X-C Motifi) Ligandı 9 (CXCL9)

Bu gen, bağışıklık ve inflamatuvar yanıtta katılan hücrelerin büyüme, hareket veya aktivasyon durumunu etkileyen sitokindir. Aktive edilmiş T hücreleri için kemotaktikdir. Kodlanmış protein, CXCR3'e bağlanır ve lenfositler için bir kemoatraktan olup, nötrofiller için değildir (Abu El-Asrar ve diğ. 2003). CXCL9 ile ilişkili hastalıklar sydenham chorea ve endotelyiti içerir. Sitokin aktivitesi ve CXCR3 kemokin reseptörü bağlanma bölgesi bulunmaktadır. Bu genin önemli bir paralogu CXCL10'dur.

Dopamin Reseptörü D2 (DRD2)

Dopamin reseptörünün D2 alt tipini kodlar. Adenil siklaz aktivitesini inhibe eder. Bu genin missense mutasyonu myoklonus distonisine neden olur; Diğer mutasyonlar şizofreni ile ilişkilendirilmiştir (Wu ve diğ. 2006). GPCR aktivitesi ve özdeş protein bağlanma bölgesi vardır. Bu genin önemli bir paralogu DRD3'dür.

Endotelin 1 (EDN1)

Bu gen, endotelin/sarafotoksin ailesine ait bir salgılanmış peptid üretmek üzere proteolitik olarak işlenmiş bir preproroteini kodlar. Bu peptid güçlü bir vazokonstriktördür ve reseptörleri pulmoner arteriyel hipertansiyonun tedavisinde terapötik hedeflerdir (Yasuda ve diğ. 2007). Bu genin yanlış bir şekilde ekspresyonu tümörigenezi teşvik edebilir (Zhang ve Sui 2014). İlgili yolları arasında prostaglandin sentezi ve GPCR ile düzenleme ve sinyal oluşturma bulunmaktadır. Reseptör bağlama ve hormon aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu EDN2'dir. Endotelin ailesi son derece güçlü vazokonstriktif peptidlerden oluşur. ET-1, ET-2 ve ET-3 olmak üzere üç endojen izoformun var olduğu bilinmektedir. Vazoaktif peptitler olarak fizyolojik rolünden dolayı endotelinler bazı kardiyak, vasküler ve böbrek hastalıklarıyla bağlantılıdır. Dolayısıyla bu koşulların tedavisinde endotelin antagonistleri önemli bir rol oynayabilir. İki farklı endotelin reseptörü şimdiye kadar memelilerde kopyalanmış olup, ETA ve ETB reseptörleri olarak sınıflandırılmıştır.

Endotelin Reseptör Tip A (EDNRA)

Bu gen, güçlü ve uzun süreli vazokonstriksiyonda rol oynayan bir peptid olan endotelin-1 için reseptörü kodlar. Bu reseptör, guanin-nükleotid bağlama proteinleriyle ilişkilidir ve bir fosfatidilinositol-kalsiyum ikinci haberci sistemini aktive eder. Bunlar öncelikle vazokonstriksiyon ve hücre proliferasyonunda rol oynayan vasküler düz kasta bulunur (Donato ve diğ. 2014). Bu genin polimorfizmleri migren baş ağrısı direnciyle ilişkilendirilmiştir. İlgili yolları arasında peptid ligand bağlama reseptörleri ve kardiyak hipertrofi bulunur. G-proteine eşlenmiş reseptör aktivitesi ve endotelin reseptör aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu EDNRB'dir.

EPH Reseptörü A1 (EPHA1)

Bu gen, protein-tirozin kinaz ailesinin efrin reseptörü alt ailesine aittir. EPH ve EPH ile ilgili reseptörler, özellikle sinir sisteminde, gelişimsel olaylara aracılık etmeyle ilişkilendirilmiştir. EPH alt ailedeki reseptörler tipik olarak tek bir kinaz alanına ve sistein-zengin bir alan ve fibronektin Tip III tekrar içeren bir hücre dışı bölgeye sahiptir. Efrin reseptörleri, ekstraselüler alan dizilerinin benzerliklerine ve efrin-A ve efrin-B ligandlarının bağlanması için olan afinitelerine dayanarak 2 gruba ayrılmıştır. Bu gen, bazı insan kanser hücre dizisinde eksprese edilir ve karsinogeneizde rol oynar. Transferaz aktivitesi, fosfor içeren gruplar ve protein tirozin kinaz aktivitesi bulunur. Bu genin önemli bir paralogu EPHA2'dir. Düşük afiniteli EFNA3 ve EFNA4 ile ve muhtemelen onun fonksiyonel ligandı oluşturan EFNA1'e yüksek afiniteli bağlar. Anjiyogeneizde rol oynar ve hücre proliferasyonunu düzenler. Apoptozda rol oynayabilir. Eph reseptörleri reseptör tirozin kinazların (RTKs) en büyük ailesidir ve iki alt sınıf, EphA ve EphB'ye ayrılırlar (Bocharov ve diğ. 2008). Başlangıçta akson kılavuzluğunun araçları olarak tanımlanan Eph reseptörleri birçok süreçte, özellikle kanser gelişimi ve ilerlemesinde rol oynar.

Fas Ligandı (FASLG)

Bu gen tümör nekroz faktörü süper ailesinin bir üyesidir. Kodlanmış transmembran proteininin temel fonksiyonu, FAS'a bağlanarak tetiklenen apoptozun indüksiyonudur. FAS/FASLG sinyal yolu, T hücrelerinin aktivasyona bağlı hücre

ölümü (AICD) ve sitotoksik T lenfositinin indüklediği hücre ölümünü içeren bağışıklık sistemi düzenlemesi için gereklidir (Silva ve diğ. 2013). Ayrıca çeşitli kanserlerin ilerlemesinde rol oynar. Bu gendeki bozukluklar bazı sistemik lupus eritematosus (SLE) ile ilişkili olabilir. FASLG ile ilişkili hastalıklar arasında otoimmün lenfoproliferatif sendromu yer alır. Reseptör bağlama ve tümör nekroz faktörü reseptör bağlanma bölgesi içerir. Bu genin önemli bir paralogu TNFSF15'tir. Apoptotik sinyali hücrelere dönüştüren bir reseptör olan TNFRSF6/FAS'a bağlanan sitokindir. TNFRSF6 / FAS aracılı apoptoz ve periferal toleransda rol oynayabilir.

Fibroblast Büyüme Faktörü 2 (FGF2)

Bu gen tarafından kodlanan protein fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesinin bir üyesidir. FGF aile üyeleri heparini bağlar ve geniş mitojenik ve anjiyojenik aktivitelere sahiptir. Bu protein sinir sistemi gelişimi, yara iyileşmesi ve tümör büyümesi gibi çeşitli biyolojik süreçlerde rol oynar. Bu genin mRNA'sı birden fazla poliadenilasyon bölgesi içerir ve alternatif olarak AUG olmayan (CUG) ve AUG başlatma kodonlarından çevrilir ve farklı özelliklere sahip beş farklı izoform elde edilir. CUG ile başlatılan izoformlar çekirdeğin içinde lokalizedir oysa AUG'nin başlattığı form çoğunlukla sitozoliktir ve bu FGF'nin parakrin ve otokrin etkilerinden sorumludur. Sitokin aktivitesi ve heparin bağlama bölgesi yer alır. Bu genin önemli bir paralogu FGF1'dir. Hücrenin hayatta kalması, hücre bölünmesi, anjiyogenez, hücre farklılaşması ve hücre göçünün düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. In vitro olarak güçlü mitojen olarak işlev görür. Anjiyogenezi baskılayabilir (Mori ve diğ. 2013).

Forkhead kutusu P3 (FOXP3)

Bu gen tarafından kodlanan protein, transkripsiyonel düzenleyicilerin forkhead heliks ailesinin bir üyesidir. Bu gendeki bozukluklar, immün yetmezlik polendokrinopatisi, enteropati, X bağlantılı otoimmünite bağlı immün yetmezlik sendromu olarak da bilinen X-bağlantılı sendrom (IPEX)'un nedenidir. Alternatif olarak, farklı izoformları kodlayan transkripsiyon varyantları saptanmıştır. Transkripsiyon faktörü aktivitesini, diziye özgü DNA bağlamayı ve diziye özgü DNA bağlamayı içerir. Bu genin önemli bir paralogu FOXP2'dir. Düzenleyici T hücrelerinin (Treg) gelişimi ve inhibe edici fonksiyonu için çok önemli olan transkripsiyonel düzenleyicidir. Treg stabilitesinin elde edilmesine izin vererek ve

konvansiyonel T hücrelerinin işlevini doğrudan modüle ederek bağışıklık sisteminin homeostazını sürdürmede önemli bir rol oynar. Diğer transkripsiyon faktörleri, histon asetilazlar ve deasetilazlar ile olan etkileşimine bağlı olarak transkripsiyonel baskılayıcı veya transkripsiyonel aktive edici olarak hareket edebilir. Treg'in baskılanması, IL2 ve IFNG gibi sitokinleri kodlayan genlerin bastırılması ile birlikte FOXP3 tarafından CTLA4 ve TNFRSF18 de dahil olmak üzere birçok genin koordinat aktivasyonunu içerir. İki önemli transkripsiyon faktörü olan RELA ve NFATC2'nin aktivitesini bastırarak sitokin üretimini ve T hücre efektör fonksiyonunu inhibe eder (Bettelli ve diğ. 2005). Histon asetilaz KAT5 ve histon deasetilaz HDAC7 ile ilişkisi yoluyla IL2'nin transkripsiyonel baskılanmasına aracılık eder (Li ve diğ. 2007). TNFRSF18, IL2RA ve CTLA4 ekspresyonunu aktive edebilir ve transkripsiyon faktörü RUNX1 ile ilişkisi yoluyla IL2 ve IFNG ekspresyonunu baskılayabilir (Ono ve diğ. 2007). RORC fonksiyonunu antagonize ederek IL17 ekspresyonunun regülasyonuna yol açarak Treg gelişimini destekleyerek IL17 üreten yardımcı T hücrelerinin (Th17) farklılaşmasını engeller (Zhou ve diğ. 2008). RORA'nın transkripsiyonel aktivatör aktivitesini inhibe eder (Du ve diğ. 2008). IL2 ve IFNG'nin ekspresyonunu, IKZF4 transkripsiyon faktörü ile ilişkisi yoluyla bastırabilir.

Guanin Nükleotidi Bağlayan Protein (G Protein), Alfa Önleyici 2(GNAI2)

Bu gen guanin nükleotid bağlama proteinleri alfa alt birimi proteini kodlar. Kodlanmış protein guanin nükleotid bağlama domeyni içerir ve adenilat siklazı hormonal düzenlenmesinde yer almaktadır. Çeşitli farklı izoformlar kodlayan transkript varyantı bu gen için de tespit edilmiştir, ancak sadece iki tane tam uzunlukta doğal formu bilinmektedir.

GNAS Kompleks Lokusu (GNAS)

Bu lokus oldukça karmaşık bir ifade modeline sahiptir. Dört alternatif promotor ve 5 eksondan türetilen transkriptler oluşur. Bazı transkriptler 5' ekzon bölgesinde diferansiyel olarak metillenmiş bir bölge (DMR) içerir ve bu bölge sıklıkla baskılanmış genlerde bulunur ve transkript ifadesi ile korelasyon gösterir. Karşılıklı iplikçik üzerinde örtüşen lokustan bir ters transkript üretilir. Bu lokustan üretilen transkriptlerden biri ve ters transkripti, kodlanmamış RNA'lardır. Ek olarak,

transkriptlerden biri, yapısal olarak ilgisiz bir proteini (Alex) kodlayan ORF'yi içerir. Bu gen için farklı izoformları kodlayan çoklu transkript varyantları bulunmuştur. Farklı bir açık okuma çerçevesinde aynı lokustan üretilen guanin nükleotid-bağlayıcı protein G(s) altbirim alfa'nın adenilat siklaz uyarıcı aktivitesini inhibe edebilir. G proteinleri, GPCR'ler tarafından kontrol edilen çok sayıda sinyal yolağında transdüser olarak işlev görür (Gao ve diğ. 2007). Sinyalizasyon, adenil siklazların aktivasyonunu içerir, bu da sinyal molekülü cAMP'sinin seviyelerinin artmasına neden olur (Brand ve diğ. 2015; Farfel ve diğ. 1996). GNAS, beta-adrenerjik reseptörler de dâhil olmak üzere çeşitli GPCR'lerde işlev görür (Thiele ve diğ. 2011). XLas izoformları, aynı reseptör ile GNAS izoformları olarak etkileşime girer. RAPGEF2 yoluyla Ras sinyal yolunu harekete geçirir (Pak ve diğ. 2002). Bu gendeki mutasyonlar, psödohipoparatiroidizm tip 1a, psödohipoparatiroidizm tip 1b, osteodistrofi, McCune-Albright sendromu, heteroplazisi, polioyotik fibröz displazisi ve bazı hipofiz tümörleri ile sonuçlanır.

Glutamat Reseptör, Metabotropik 1 ve 5 (GRM1 ve GRM5)

Bu gen, fosfolipaz C'yi aktive ederek işlev gören bir metabotropik glutamat reseptörünü kodlar. L-glutamat, merkezi sinir sistemindeki başlıca eksitatör nörotransmitterdir ve hem iyonotropik hem de metabotropik glutamat reseptörlerini aktive eder. Glutamaterjik nörotransmisyon, normal beyin işlevinin birçok yönünde yer alır. Kodlanan proteinin kanonik alfa izoformu, aktivitesi bir G proteine bağlı fosfatidilinositol-kalsiyum ikinci haberci sisteminin aracılık ettiği bir disülfid bağlı homodimerdir. Bu gen, şizofreni, bipolar bozukluk, depresyon ve göğüs kanseri gibi birçok hastalık durumu ile ilişkili olabilir (Ayoub ve diğ. 2012). GPCR aktivitesi ve glutamat reseptör aktivitesine sahiptir (Wu ve diğ. 2014). Bu genin önemli bir paralogu GRM5'tir. Ligand bağlanması, G proteinler yoluyla sinyalleme tetikleyen ve efektörlerinin aktivitesini modüle eden bir konformasyon değişikliğine neden olur. Sinyalizasyon, bir fosfatidilinositol-kalsiyum ikinci haberci sistemini aktive eder. Hipokampusta uzun süreli potentiasyon ve serebellumda uzun süreli depresyon gibi CNS'de glutamatın merkezi etkisine katılabilir. Metabotropik glutamat (GRM) grup I reseptörleri, GRM1 ve GRM5 olmak üzere iki alt türe ayrılmıştır.

Glutamat Reseptör, Metabotropik 2, 4, 7 (GRM2, GRM4, GRM7)

L-glutamat merkezi sinir sistemindeki en önemli uyarıcı nörotransmitterdir ve hem iyonotropik hem de metabotropik glutamat reseptörlerini aktive eder. Glutamaterjik nörotransmisyon, normal beyin işlevinin birçok yönünde yer alır. Metabotropik glutamat reseptörleri, dizi homolojisi, varsayılan sinyal iletim mekanizmaları ve farmakolojik özelliklere dayanarak 3 gruba ayrılmış G proteine bağlı reseptörler ailesidir. Grup I, GRM1 ve GRM5'i içerir ve bu reseptörlerin fosfolipaz C'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Grup II, GRM2 ve GRM3'ü içerirken, Grup III GRM4, GRM6, GRM7 ve GRM8'i içerir. Grup II ve III reseptörleri cAMP kaskadının inhibisyonuyla bağlantılı olmakla birlikte, bunların agonist seçiciliklerinde farklılık arz etmektedir. Bu gen için farklı izoformları kodlayan iki transkript varyantı bulunmuştur. GPCR aktivitesi ve glutamat reseptör aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu GRM3'dür. Ligand bağlanması, G proteinler yoluyla sinyalleme başlatan ve adenilat siklaz gibi efektörlerinin aktivitesini modüle eden bir konformasyon değişikliğine neden olur. Sinyalizasyon, adenilat siklaz aktivitesini inhibe eder. Nörotransmisyonun bastırılmasına aracılık edebilir veya sinaptogenez veya sinaptik stabilizasyona karışabilir.

Histon Deasetilaz 1 (HDAC1)

Çoklu altbirim kompleksleri tarafından katalize edilen, histon asetilasyon ve deasetilasyon, ökaryotik gen ifadesinin düzenlenmesinde anahtar bir rol oynar. Retinoblastoma tümör baskılayıcı protein ile etkileşime girer ve bu kompleks hücre çoğalması ve farklılaşmasının kontrolünde önemli bir elementtir. Metastaza bağlı protein-2 ile birlikte p53'ün deasetilleştirilmesi ve hücre büyümesi ve apoptoz üzerindeki etkisini modüle eder (Ito ve diğ. 2002). Transkripsiyon faktörü aktivitesini ve diziyeye özgü DNA bağlama alanı içerir. Bu genin önemli bir paralogu HDAC2'dir. Çekirdek histonlarının (H2A, H2B, H3 ve H4) N-terminal bölümünde lizin kalıntılarının deasetilasyonundan sorumludur. Histon deasetilasyonu transkripsiyonel regülasyon, hücre döngüsü ilerlemesi ve gelişimsel olaylarda önemli rol oynar.

Hekzosaminidaz B (HEXB)

Heksozaminidaz B, kofaktör GM2 aktivator proteini ile birlikte GM2 gangliosidinin ve terminal N-asetil heksosaminleri içeren diğer moleküllerin parçalanmasını katalize eden lizozom enzimi beta-heksosaminidazın beta alt birimi niteliğindedir. Beta-heksosaminidaz, alfa ve beta olmak üzere iki ayrı altbirimden oluşur ve bunlar ayrı genler tarafından kodlanır. Hem beta-heksosaminidaz alfa hem de beta altbirimleri glikozil hidrolazların ailesinin üyesidir. Alfa veya beta altbirim genlerindeki mutasyonlar, nöronlarda GM2 gangliosid birikimine ve GM2 gangliosidozları olarak adlandırılan nörodejeneratif bozukluklara yol açar. Beta altbirim gen mutasyonları Sandhoff hastalığına (GM2-gangliosidoz tip II) yol açar (Redonnet-Vernhet ve diğ. 1996). O-glikosil bileşiklerini hidrolize eden protein homodimerizasyon aktivitesi ve hidrolaz aktivitesine sahiptir. Bu genin önemli bir paralogu HEXA'dır.

Hipoksi İle İndüklenebilir Faktör 1, Alfa Altbirimi (HIF1A)

Bu gen, bir alfa ve bir beta alt biriminden oluşan bir heterodimer olan transkripsiyon faktörü hipoksi-indüklenebilir faktör-1'in (HIF1) alfa altbirimini kodlar. HIF1, enerji metabolizması, anjiyogenez, apoptoz ve protein ürünleri oksijen vermeyi arttıran veya hipoksiye metabolik uyarlamayı kolaylaştıran diğer genler dâhil birçok genin transkripsiyonunu aktive ederek hipoksiye hücrel ve sistemik homeostatik tepkinin ana düzenleyicisi olarak işlev görür. HIF1, embriyonik vaskülarizasyon, tümör anjiyogenezi ve iskemik hastalığın patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Hipoksiya adaptif yanıtın ana transkripsiyonel regülatörü olarak işlev görür. Hipoksik koşullar altında, eritropoietin, glikoz taşıyıcıları, glikolitik enzimler, vasküler endotelial büyüme faktörü ve protein ürünleri oksijen dağıtımını arttıran veya hipoksiye metabolik uyarlamayı kolaylaştıran diğer genler de dâhil olmak üzere 40'dan fazla genin transkripsiyonunu aktive eder. Embriyonik vaskülarizasyon, tümör anjiyogenezi ve iskemik hastalığın patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Hedef gen promotörlerinin hipoksi cevap elemanı (HRE) içinde çekirdek DNA sekansı 5- [AG] CGTG-3'e bağlanır (Slemc ve Kunej 2016). Aktivasyon, CREBPB ve EP300 gibi transkripsiyonel koaktivatörlerin alınmasını gerektirir. Bu genin ekspresyonu yaşlanmaya bağlı olarak artar. HIF-1 ekspresyon

düzeyindeki artış nörodejeneratif hastalıkları patogenezinde önemlidir (Zhang ve diğ. 2011).

Ana Histokompatibilite Kompleksi, Sınıf II, DR Beta 1 (HLA-DRB1)

HLA-DRB1, HLA sınıf II beta zinciri paraloglarına aittir. Sınıf II molekül, membranda sabitlenmiş bir alfa (DRA) ve bir beta zincirinden (DRB) oluşan bir heterodimerdir. Ekstraselüler proteinlerden türetilen peptidleri sunarak bağışıklık sisteminde merkezi bir rol oynar. Sınıf II moleküller, antijen sunan hücrelerde (B lenfositleri, dendritik hücreler, makrofajlar) ifade edilir. Beta zinciri yaklaşık 26-28 kDa'dır. 6 ekson tarafından kodlanır. Ekzon bir lider peptidi kodlar; ekzon 2 ve 3, iki hücre dışı alanı kodlamaktadır; ekzon 4 transmembran alan kodlar; ve ekzon 5 sitoplazmik kuyruğu kodlar. DR molekülü içinde beta zinciri, peptit bağlama spesifliklerini belirten tüm polimorfizmleri içerir. Yüzlerce DRB1 alleli tanımlanmıştır. DRB1 paralogları DRB3, DRB4 ve DRB5'ten beş kat daha yüksek bir seviyede ifade edilir. DRB1 tüm bireylerde bulunur. DRB1'in alelik varyantları DRB3, DRB4 ve DRB5 genlerinden hiçbiri veya biriyle bağlantılı değildir. 4 ilgili psödogen vardır: DRB2, DRB6, DRB7, DRB8 ve DRB9 (Yu ve diğ. 2008). Antijen sunan hücrelerin (APC) endositik yoluna erişen ve CD4⁺ T hücreleri tarafından tanımak için hücre yüzeyi üzerinde bulunan antijenlerden türemiş peptitleri birbirine bağlar. Peptid bağlayıcı bölge, 10-30 kalıntı peptidi barındırır. MHC sınıf II molekülleri tarafından sunulan peptitler çoğunlukla endositik rotaya erişen proteinlerin parçalanmasıyla üretilir. Burada lizozomal proteazlar ve diğer hidrolazlar tarafından işlenirler. APC tarafından endositize edilen dışa dönük antijenler MHC II molekülleri vasıtasıyla kolaylıkla sunulabilir ve bu nedenle bu antijen sunum yoluna genellikle eksojen denir. Normal çevirilerinin bir parçası olarak lizozomlarda bozulmaya yol açan zar proteinleri endozomal/lizozomal bölmelerde de bulunduğu için dışsal antijenler, endojen bileşenlerden türetilenler ile rekabet etmelidir. Otofaji aynı zamanda endojen peptidlerin bir kaynağıdır. APC'lere ek olarak gastrointestinal sistemin diğer hücreleri epitelyal hücreler gibi; MHC sınıf II moleküllerini ve CD74'ü ifade eder ve APC'ler olarak davranır.

Hücreler Arası Adezyon Molekülü 1 (ICAM1)

Bu gen, tipik olarak endotel hücreleri ve bağışıklık sisteminin hücreleri üzerinde sentezlenen bir hücre yüzeyi glikoproteini kodlar. Hücre adhezyon

molekülleri (CAM), bir hücrenin başka bir hücrelere veya hücre dışı matristen bağlanmasına katılan geniş bir transmembran protein ailesidir. Hücre çoğalması, farklılaşma, motilite, apoptoz ve doku mimarisinde rol oynar. CD11a/CD18 veya CD11b/CD18 tipi integrinlere bağlanır. ICAM1 ile ilişkili hastalıklar sıtma ve lökostat'ı içerir. Bu genin önemli bir paralogu ICAM5'tir. ICAM proteinleri, lökosit yapışma proteini LFA-1 (integrin alfa-L/beta-2) için ligandlardır. Büyük reseptör grubu rinovirüs A-B kapsid proteinleri için bir reseptör görevi görür (Marlin ve diğ. 1990; Greve ve diğ. 1989). Coxsackievirus A21 kapsid proteinleri için bir reseptör gibi davranır (Xiao ve diğ. 2001; Xiao e diğ. 2005; Bella ve diğ. 1998). Sarkom ile ilişkili herpesvirüs/HHV-8 enfeksiyonu üzerine, muhtemelen sitotoksik T-lenfositleri ve NK hücresi tarafından enfekte olmuş hücrelerin lizisinin önlenmesi için viral E3 ubiquitin ligaz MIR2 ile gerçekleşir (Coscoy ve Ganem 2001).

İnterferon Gama (IFNG)

Bu gen, tip II interferon sınıfının bir üyesi olan bir çözümlenir sitokini kodlar. Kodlanmış protein hem doğal hem de adaptif bağışıklık sistemlerinin hücreleri tarafından salgılanır. Aktif protein, viral ve mikrobik enfeksiyonlara karşı hücrel bir tepkiyi tetikleyen interferon gama reseptörüne bağlanan bir homodimerdir. Bu gendeki mutasyonlar, viral, bakteriyel ve parazitik enfeksiyonlara ve bazı otoimmün hastalıklara duyarlılığın artması ile ilişkilidir. İlgili yolları arasında İmmün yanıt IL12 sinyal yolağı ve PEDF indüklü sinyal yolağı vardır (Wang ve diğ. 2010; Bam ve diğ. 2016). Sitokin aktivitesi ve interferon-gama reseptör bağlanma bölgesi içerir. Spesifik antijenler veya mitojenler tarafından aktive edilen lenfositler tarafından üretilir. IFNG, antiviral aktiviteye sahip olmanın yanı sıra önemli bağışık düzenleyici işlevlere sahiptir. Makrofajların güçlü bir etkinleştiricisi olup, dönüştürülmüş hücreler üzerinde antiproliferatif etkilere sahiptir ve tip I interferonların antiviral ve antitümör etkilerini güçlendirebilir.

İnterlökin 1, Beta (IL1B)

Bu gen tarafından kodlanan protein interlökin 1 sitokin ailesinin üyesidir. Bu sitokin, aktive makrofajlar tarafından bir proprotein olarak üretilir ve kaspaz 1 (CASP1/ICE) tarafından proteolitik olarak aktif formuna işlenir. Bu sitokin, inflamatuvar cevabın önemli bir arabulucusudur ve hücre proliferasyonu, farklılaşma ve apoptoz dâhil olmak üzere çeşitli hücrel aktivitelerle ilgilidir. Merkezi sinir

sistemindeki bu sitokin tarafından siklooksijenaz-2'nin (PTGS2/COX2) indüklenmesinin, iltihaplı ağrı aşırı duyarlılığına katkıda bulunduğu bulunmuştur. Bu gen ve sekiz diğer interlökin 1 familyası geni kromozom 2 üzerinde bir sitokin gen kümesi oluşturur. IL1B ile ilişkili hastalıklar, *Helicobacter pylori* infeksiyonu ve periodontal hastalıktan sonra gastrik kanser riski içerir (Semper ve diğ. 2014). Protein alanı spesifik bağlanma ve interlökin-1 reseptör bağımlı içerir. Güçlü proinflamatuvar sitokindir. Başlangıçta büyük endojen pirojen olarak keşfedilen, prostaglandin sentezi, nötrofil akışı ve aktivasyonu, T-hücresi aktivasyonu ve sitokin üretimi, B-hücresi aktivasyonu ve antikor üretimi ve fibroblast çoğalması ve kollajen üretimini indükler. T-hücrelerinin Th17 farklılaşmasını destekler. Proliferasyon, farklılaşma ve hücre sağ kalım/apoptoz gibi birçok farklı hücre fonksiyonları kontrol eder, aynı zamanda birçok patofizyolojik süreçte rol alırlar.

İnterlökin 2 (IL2)

Bu gen tarafından kodlanan protein, T ve B lenfositlerinin proliferasyonu için önemli olan salgılanan bir sitokindir. Bu sitokinin reseptörü, gama zinciri aynı zamanda interlökin 4 (IL4) ve interlökin 7 (IL7) tarafından paylaşılan heterotrimerik bir protein kompleksidir. Bu genin olgun timositlerde ekspresyonu monoalleliktir ve bu da tek bir genin kesin ekspresyonunu kontrol etmek için olağandışı düzenleyici bir mod oluşturmaktadır. Farelerde benzer bir genin hedefi bozulması, ülseratif kolit benzeri hastalıklara yol açmakta ve bu da bu genin antijenik uyarılara karşı immün yanıtta önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Eleonora ve diğ. 2009). IL2 ile ilişkili hastalıklar böbrek kanserini içerir. Büyüme faktörü aktivitesini içerir. T hücrelerinin çoğalması ve bağışıklık tepkisinin düzenlenmesi için hayati diğer aktiviteler için bu protein, antijenik veya mitojenik uyarıya tepki olarak T hücreleri tarafından üretilir. B hücrelerini, monositleri, lenfokin ile aktive olan sitotoksik hücreleri, doğal öldürücü hücreleri ve glioma hücrelerini uyarabilir.

İnterlökin 10 (IL10)

Bu gen tarafından kodlanan protein, başta monositler tarafından üretilen ve daha az oranda lenfosit tarafından üretilen bir sitokindir. Bu sitokin immunoregülasyon ve iltihapta pleiotropik etkilere sahiptir. Th1 sitokinlerinin, MHC sınıf II antijenlerin ve makrofajlar üzerindeki uyarıcı moleküllerin ifadesini düzenler. Aynı zamanda B hücrelerinin hayatta kalma, çoğalma ve antikor üretimini de artırır.

Bu sitokin, NFkB aktivitesini bloke edebilir ve JAK-STAT sinyal yolunun düzenlenmesinde yer alır (Driessler ve diğ. 2004; Carey ve diğ. 2012). Farelerdeki 'knock out' çalışmaları, bu sitokinin bağırsak sisteminde gerekli bir bağışıklık düzenleyicisi olarak işlev gördüğünü göstermiştir (Shouval ve diğ. 2014). Bu gendeki mutasyonlar, HIV-1 enfeksiyonu ve romatizmal artirit için artmış duyarlılıkla ilişkilidir. Sitokin aktivitesi ve interlökin-10 reseptör bağlanma bölgesi yer alır. Aktif makrofajlar ve yardımcı T-hücreleri tarafından üretilen IFNG, IL-2, IL-3 ve TNF'de dâhil olmak üzere bir dizi sitokinin sentezini inhibe eder.

İnterlökin 13 (IL13)

Bu gen öncelikle aktive edilmiş Th2 hücreleri tarafından üretilen bir immüno-regülatör sitokini kodlar. Bu sitokin, B hücresi olgunlaşması ve farklılaşmasının birkaç aşamasında yer alır. CD23 ve MHC sınıf II ifadesini düzenler. Bu sitokin makrofaj aktivitesini düzenler, dolayısıyla pro-inflamatuar sitokinler ve kemokinlerin üretimini engeller. Bu sitokinin allerjen kaynaklı astım patogeneğinde kritik olduğu ancak IgE ve eozinofilden bağımsız mekanizmalar yoluyla işlediği saptanmıştır. Bu gen IL3, IL5, IL4 ve CSF2 kromozom 5q üzerinde bir sitokin gen kümesi oluşturur ve bu gen özellikle IL4'e yakındır. IL13 ile ilişkili hastalıklar allerjik rinit ve astımı içerir (Accordini ve diğ 2016). Enflamatuvar sitokin üretimini inhibe eder. IFNG sentezini düzenleyen IL2 ile sinerji oluşturur. Enflamatuvar ve bağışık yanıtların düzenlenmesinde kritik olabilir. Makrofajlarda IL31RA ifadesini pozitif olarak düzenler.

İnterlökin 18 (IL18)

Bu gen tarafından kodlanan protein, dalak hücrelerinde doğal öldürücü hücre aktivitesini arttıran ve T yardımcı hücrelerinde IFNG üretimini uyaran bir proinflamatuar sitokindir (Bohn ve diğ. 1998). Alternatif olarak, bu gen için farklı izoformları kodlayan transkript varyantları bulunmuştur. Sitokin aktivitesini içerir.

İnterlökin 6 (IL6)

Bu gen, iltihaplanma ve B hücrelerinin olgunlaşmasında işlev gören bir sitokini kodlar. Buna ek olarak, kodlanmış proteinin otoimmün hastalıkları veya enfeksiyonları olan insanlarda ateş yaratabilen endojen bir pirojen olduğu gösterilmiştir. Protein öncelikle akut ve kronik iltihaplanma bölgelerinde üretilir ve

burada serum içine salgılanır ve interlökin 6 reseptörü alfa vasıtasıyla transkripsiyonel bir enflamatuvar tepki başlatır. Bu genin işleyişi, şekerli diyabet ve sistemik juvenil romatoid artrite şüphelenilmesi de dâhil olmak üzere çok çeşitli iltihap ile ilişkili hastalık durumlarıyla ilişkilendirilir. IL6 ile ilişkili hastalıklar, romatoid artrit ve sarkomayı kapsar (Smolen ve diğ. 2013). Reseptör bağlama ve büyüme faktörü aktivitesi vardır. Çok çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahip olan bir sitokindir. Akut faz tepkisinin güçlü bir uyarıcısıdır. B hücrelerinin Ig salgılayan hücrelere nihai farklılaşmasında önemli bir rol oynar (Levy ve diğ. 1990). Lenfosit ve monosit farklılaşmasında görevlidir. B hücreleri, T hücreleri, hepatositler, hematopoietik progenitör hücreler ve MSS hücreleri üzerinde çalışır (Gruol 1995). Th17 hücrelerinin üretimi için gereklidir. Ayrıca bir miyokin görevi görür. Yağların parçalanmasını artırmak ve insülin direncini artırmak için çalışır. Miyelom ve plazmasitoma büyümesine neden olur ve sinir hücrelerinin farklılaşmasını sağlar.

İntegrin, Beta 2 (ITGB2)

Bu gen, farklı integrin heterodimerler oluşturmak üzere çok sayıda farklı alfa zincirleri ile birleşen bir integrin beta zincirini kodlar. İntegrinler, hücre yapışmasına ve hücre yüzeyine bağlı sinyallemeye katılan integral hücre yüzeyi proteinleridir. Kodlanmış protein immün yanıtta önemli bir rol oynar ve bu gendeki kusurlar lökosit adezyon eksikliğine neden olur. Protein heterodimerizasyon aktivitesi ve reseptör aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu ITGB7'dir. İntegrin alfa-L/beta-2 ICAM1, ICAM2, ICAM3 ve ICAM4 için bir reseptördür. Doğal öldürücü hücre sitotoksitesine katkıda bulunur (Barber ve diğ. 2004). Lökosit yapışması ve T hücreleri ve nötrofilleri içeren lökositlerin göçü ile ilgilidir (Ostermann ve diğ. 2002). PTK2B/PYK2 aracılı aktivasyon yoluyla akciğer hasarı sırasında nötrofil göçünü tetikler (Xu ve diğ. 2008). İntegrin alfa-L/beta-2, ICAM3 ile birleşimde makrofajların apoptotik nötrofil fagositozuna katkıda bulunur (Kristóf ve diğ. 2013).

Jun Proto-Onkogen (JUN)

Bu gen kuş sarkom virüsü 17'nin varsayılan dönüşüme uğramış genidir. Viral proteine oldukça benzer ve gen ifadesini düzenleyen belirli hedef DNA dizileri ile doğrudan etkileşime giren bir proteini kodlar. Bu gen, intronsuzdur ve 1p32-p31, yani insan malignitelerinde hem yer değiştirmeler hem de delesyonlar içeren bir

kromozomal bölgedir. JUN ile ilişkili hastalıklar beyin sarkomudur. Poli(A) RNA'ya bağlanma ve diziye özgü DNA bağlama bölgesi içerir. Bu genin önemli bir paralogu JUND'dir. İyileştirici heptamer motif 5-TGA [CG] TCA-3' tanıyan ve bağlayan transkripsiyon faktörüdür. NRPA1'in, HIPK3 ile fosforile edildiğinde, cAMP sinyal yolağı uyarımı üzerine artmış steroidojenik gen ifadesine yol açan aktiviteyi destekler. Kolorektal kanser hücrelerinde USP28'in aktive KRAS aracılı transkripsiyonel aktivasyonu sağlar. Kolorektal kanser hücrelerinde USP28 promotöre bağlanır (Serra ve diğ. 2014).

Lenfo Toksin Alfa (LTA)

Kodlanmış protein, tümör nekroz faktör ailesinin bir üyesidir ve lenfositler tarafından üretilen bir sitokindir. Protein yüksek seviyede indüklenebilir, salgılanır ve hücre yüzeyine lenfotoksin-alfa bağlayan lenfotoksin-beta ile heterotrimerler oluşturur. Bu protein ayrıca gelişmekte olan dönemde sekonder lenfoid organların oluşumunda rol oynayan ve apoptozda rol oynayan çok sayıda iltihaplı, immün sistemi uyarıcı ve antiviral yanıtlara aracılık eder. Bu genin genetik çeşitliliği, cüzmali tip 4, miyokard enfarktüsü, non-Hodgkin lenfoma ve psoriatik artrite yatkınlık ile ilişkilidir. Homotrimerik formunda TNFRSF1A/TNFR1, TNFRSF1B/TNFR2 ve TNFRSF14/HVEM'ye bağlanır. LTB'ye sahip heterotrimerik formunda, TNFRSF3/LTBR'ye bağlanır. Lenfotoksin, *in vitro* ve *in vivo* geniş bir yelpazede tümör hücreleri için lenfositler ve sitotoksik olarak üretilir.

Mal, T Hücreli Farklılaşma Protein (MAL)

Bu gen tarafından kodlanan protein, proteolipidlerin MAL ailesine ait oldukça hidrofobik entegre bir zar proteindir. Protein, T hücrelerinin endoplazmik retikulumuna lokalizedir ve T hücre sinyal iletiminde aday bir bağlayıcı proteindir. Buna ek olarak, bu proteolipid, sinir sistemindeki hücrelerin kompakt miyelininde lokalizedir ve miyelin biyogenezinde ve fonksiyonunda rol oynar. Protein, glikosfingolipit bakımından zenginleştirilmiş zar mikro alanlarının oluşumunda, stabilizasyonunda ve bakımında rol oynar. Apoptotik süreçte yer alan lipid bağlama ve peptidaz aktivatör aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu MALL'dır. Golgi kompleksi ile apikal plazma membranı arasındaki veziküler dolaşımda önemli bir bileşen olabilir. Miyelin biyogenezi ve miyelin işlevine karışabilirler (Frank 2000).

Mitojenle Aktive Edilmiş Protein Kinaz 1(MAPK1)

Bu gen, MAP kinaz ailesinin bir üyesini kodlar. Hücre dışı sinyalle düzenlenmiş kinazlar (ERK'ler) olarak da bilinen MAP kinazlar, çoklu biyokimyasal sinyaller için bir entegrasyon noktası olarak hareket ederler ve çoğalma, farklılaşma, transkripsiyon regülasyonu ve gelişimi gibi çok çeşitli hücrel süreçlerde yer alırlar. Bu kinazın aktivasyonu, kinazlar tarafından fosforilasyonunu gerektirir. Aktivasyon üzerine, bu kinaz, nükleer hedefleri fosforile ettiği uyarılmış hücrelerin çekirdeğine yer değiştirir. Bir çalışma ayrıca, bu proteininin kinaz aktivitesinden bağımsız bir transkripsiyonel baskılayıcı olarak hareket ettiğini ileri sürmektedir (Shaohui ve diğ. 2009). Transferaz aktivitesi, fosfor içeren gruplar ve protein tirozin kinaz aktivitesi bulunur. Bu genin önemli bir paralogu MAPK3'dür. MAP kinaz sinyal iletim yolunun gerekli bir bileşeni olarak görev yapan serin/treonin kinazdır. MAPK1/ERK2 ve MAPK3/ERK1, MAPK/ERK kaskatında önemli bir rol oynayan iki MAPK'dır. Hücrel içeriğe bağlı olarak, MAPK/ERK kaskadı, hücre büyümesi, adezyon, hayatta kalma ve transkripsiyon, translasyon, sitoskeletal yeniden düzenlenmelerin düzenlenmesi yoluyla farklılaşma gibi çeşitli biyolojik fonksiyonlara aracılık eder (Zhang ve Liu 2002). MAPK/ERK kaskadı, birtakım transkripsiyon faktörlerinin fosforilatlanmasıyla farklılaşmış hücrelerde mayoz, mitoz ve postmitotik fonksiyonların başlatılması ve düzenlenmesinde de rol oynar. ERK'ler için yaklaşık 160 substrat keşfedilmiştir. Bu substratların çoğu çekirdekte lokalizedir ve stimülasyondan sonra transkripsiyonun düzenlenmesine katılır gibi görünmektedir. Bununla birlikte, diğer substratlar, sitozolde olduğu kadar diğer hücrel organellerde de bulunur ve bunlar translasyon, mitoz ve apoptoz gibi süreçlerden sorumludur. Dahası, MAPK/ERK kaskadı, lizozom işleme ve perinükleer geri dönüşüm bölgesi (PNRC) yoluyla endozom döngüsü de dâhil olmak üzere endozom dinamiklerinin düzenlenmesinde de yer alır. Substratlar, sitoskeletal elementler (CANX, CTTN, GJA1, MAP2, MAPT, PXN, SORBS3 veya STMN1 gibi) transkripsiyon faktörleri (ATF2, BCL6, ELK1, ERF, FOS, HSF4 veya SPZ1 gibi), apoptoz düzenleyicileri (BAD, BTG2, CASP9, DAPK1, IER3, MCL1) veya PPARG), translasyon düzenleyicileri (EIF4EBP1 gibi) ve çeşitli sinyalle ilgili moleküllerini (ARHGEF2, DCC, FRS2 veya GRB10 gibi) içerir. Protein kinazlar (RAF1, RPS6KA1/ RSK1, RPS6KA3/RSK2, RPS6KA2/RSK3, RPS6KA6/RSK4, SYK, MKNK1/MNK1, MKNK2/MNK2, RPS6KA5/MSK1, RPS6KA4/MSK2,

MAPKAPK3 veya MAPKAPK5 gibi) ve fosfatazlar (DUSP1, DUSP4, DUSP6 veya DUSP16) MAPK/ERK sinyalinin ilave sitozolik ve nükleer hedeflere yayılmasını sağlayan ve dolayısıyla basamakların özgülüğünü arttıran diğer substratlardır. EGF stimülasyonuna bağlı TPR'nin fosforilasyonunu aracılık eder. PML'yi fosforize eder ve PIN1 ile olan etkileşimini arttırarak PML bozunmasına yol açar. Transkripsiyonel baskılayıcı olarak davranır. [GC]AAA[GC] konsensüs dizisine bağlanır. IFNG kaynaklı genlerin ekspresyonunu baskılar. Transkripsiyonel aktivite, kinaz aktivitesinden bağımsızdır.

Matriks Metalloproteinaz 9 (MMP9)

Matriks metalloproteinazlar (MMP) çinko bağımlı endopeptidazlardır. Embriyo gelişiminde, doku şekillenmesi ve morfogenezde, artrit, multipl skleroz gibi hastalıklarda ve kanserde hücre invazyonunda, metastazında ve KBB'nin yıkılmasında önemli rolleri vardır. MS hastalarında çinko düzeyinin yüksek bulunması çinko ile dolayısıyla MMP'ler ile MS patogenezi arasında ilişki olduğunun bir göstergesidir (Ho ve diğ. 1986). Beyinde MMP2 ve MMP9 en fazla bulunan MMP tipleridir. MMP2, MMP7 ve MMP9'un yükselmiş seviyeleri MS'li hastalarda rapor edilmiştir. MMP2, anjiogenezis ve vasküler şekillenmede kritik rol oynar (Silletti ve diğ. 2001). Multipl sklerozda KBB hasar sürecinde MMP9 aktif rol oynar. Akut MS oluşumunda MMP9'un beyin omurilik sıvısındaki konsantrasyon artışının önemli bir rolü vardır (Gijbels ve diğ. 1992). MS atağı sırasında KBB bütünlüğünün geri kazanılması için uygulanan prednizolon (vücutta iltihaba sebep olan maddelerin salınımını engelleyerek çalışır) tedavisi KBB'nde MMP9 konsantrasyonunu düşürür (Rosenberg ve diğ. 1996). Deneysel alerjik ensefalomyelit (DAE), multipl sklerozun hayvan modelidir ve beyin ve omurilik kan damarlarında demiyelinizasyonla ilişkilidir (Liuzzi ve diğ. 2002). Bu modelle yapılan çalışmalarda MMP inhibitörü olan GM-6001 ile hayvanların tedavisi farelerde klinik deneysel alerjik ensefalomyelit gelişimini baskılamıştır (Gijbels ve diğ. 1992). Otoimmün hastalıkların hayvan modelleri başarılı olarak MMP inhibitörleri ile tedavi edilebilmektedir. DAE'de görülen KBB hasarı MMP inhibitörleri ile azaltılabilir.

V-Myc Miyelositomatosis Viral Onkogen Homoloğu (MYC)

Bu gen tarafından kodlanan protein, hücre döngüsü ilerlemesinde, apoptozda ve hücre sel dönüşüme rol oynayan çok fonksiyonlu, nükleer fosfoproteindir. Belirli hedef genlerin transkripsiyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörü olarak işlev görür. Bu genin mutasyonları, aşırı ekspresyonu, yeniden düzenlenmesi ve translokasyonu, Burkitt lenfoma da dâhil olmak üzere çeşitli hematopoetik tümörler, lösemi ve lenfoma ile ilişkilendirilmiştir (Iijima ve diğ. 1992). Burkitt lenfomalarında, AUG olmayan başlatılan proteinin sentezi bastırılır ve bu da bu genin normal fonksiyonundaki önemini düşündürür. Bu genin önemli bir paralogu MYCN'dir. DNA'yı spesifik olmayan bir şekilde bağlayan transkripsiyon faktörüdür, aynı zamanda 5-CAC[GA]TG-3 çekirdek sekansını da özel olarak tanır. Büyüme ile ilgili genlerin transkripsiyonunu aktive eder.

Nükleer Faktör Kappa B (NFkB)

NFkB ilk kez 1986 yılında Baltimore ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. İlk tanımlandığında B hücrelerinde immünoglobulin kappa hafif zincirinin üretimini kolaylaştıran bir faktör olarak tarif edilen NFkB, daha sonraları birçok organizmada ve hemen her hücre tipinde bulunan, organizmanın kendi kendini savunmada kullandığı ana şar terlerden birisi olarak kabul edilmiştir. Aktif hale gelen NFkB, immüno-inflamatuvar yanıtlar, hücre döngüsü, apoptozis, hücre adezyonu, anjiyogenez gibi olaylarda rol oynayan 200'den fazla genin transkripsiyonunu kontrol etmektedir. NFkB klinik olarak da viral enfeksiyonlar, immüno-inflamatuvar hastalıklar, multipl skleroz ve kanser gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde rol oynamaktadır (Hiscott ve diğ. 2006; Okamoto, 2006; Horie, 2007).

Nitrikoksitsentaz 2 (NOS2)

Nitrik oksit, nörotransmisyon ve antimikrobiyal ve antitümöral aktiviteler de dâhil olmak üzere birçok işlemde biyolojik mediyatör olarak görev yapan reaktif bir serbest radikaldir. Bu gen, karaciğerde eksprese olan ve lipopolisakkarid ve bazı sitokinlerin bir kombinasyonu ile indüklenebilir nitrik oksit sentazını kodlar. Üç ilgili psödogen, Smith-Magenis sendromu bölgesi içinde kromozom 17'de yer almaktadır. NOS2 ile ilişkili hastalıklar sıtma ve klamidya'yı içerir. İlgili yolaklar arasında NO'ya bağlı CFTR aktivasyonu (normal ve CF) ve kanser yolakları bulunur. Protein

homodimerizasyon aktivitesi ve oksidoredüktaz aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu NOS1'dir. Vücutta çeşitli işlevleri olan bir haberci molekülü nitrik oksit (NO) üretir (Hokari ve diğ. 1994, Guo ve diğ. 1995). Makrofajlarda NO, tümöridal ve bakterisidal etkilere aracılık eder. PTGS2/COX2 gibi sitoplazmik hedef proteinlerin sistein S-nitrosilasyonuna aracılık eder (Jia ve diğ. 2014). Enflamasyona karışması, IL6 ve IL8 gibi proinflamatuvar mediatörlerin sentezini artırır (Vuolteenaho ve diğ. 2009).

Opioid Reseptör, Delta 1 (OPRD1)

OPRD1 ile ilişkili hastalıklar yenidoğan abstim sendromu ve ilaç bağımlılığını içerir. İlgili yolları arasında peptid ligand-bağlama reseptörleri ve GPCR ile sinyal oluşturma bulunmaktadır. G-proteine bağlı reseptör etkinliği ve opioid reseptörü aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu OPRM1'dir. Endojen enkefalinler ve diğer opioidlerin bir alt kümesi için reseptör görevi gören G-protein bağlı reseptördür. Ligand bağlanması, guanin nükleotid-bağlayıcı proteinler yoluyla sinyalleme başlatan ve adenilat siklaz gibi efektörlerin aktivitesini modüle eden bir konformasyon değişikliğine neden olur. Sinyalizasyon, adenilat siklaz aktivitesinin inhibisyonuna yol açar. Kalsiyum iyonu akımlarını azaltarak ve potasyum iyonu iletkenliğini artırarak nörotransmitter salınımını engeller (Tuusa ve Petaja-Repo 2011). Ağrı algılamasında ve afyon aracılı analjezide rol oynar. Morfine analjezik tolerans geliştirmede rol oynar. Delta opioid reseptörü (OP1, DOP, DOR olarak da bilinir) aynı zamanda mü, kappa ve NOP reseptörlerini içeren G proteine bağlı reseptörlerin opioid ailesinin bir üyesidir.

Fosfoinosit-3-Kinaz, Katalitik, Gama Polipeptit (PIK3CG)

Fosfoinosit 3-kinazlar (PI3K) inositol lipidlerini fosforile eder ve bağışıklık tepkisine katılırlar (Barberis ve Hirsch 2008). Bu gen tarafından kodlanan protein, PI3K sınıf I katalitik altbirimidir. Diğer sınıf I katalitik altbirimleri gibi (p110-alfa p110-beta ve p110-delta), kodlanmış protein bir p85 düzenleyici altbirimi PI3K oluşturmak üzere bağlar. Bu gen, daha önce miyeloid lösemilerde tanımlanan yaygın olarak silinen bir kromozom 7 segmentinde bulunur. İlgili yolları arasında, kanser ve IL7 sinyalizasyon yolağı bulunur. Transferaz aktivitesi, fosfor içeren grupların transferi ve bağlanma bölgesi yer alır. Bu genin önemli bir paralogu PIK3CA'dır. Fosfatidilinositol 3,4,5-trisfosfat (PIP3), hücre büyümesi, hayatta kalma,

proliferasyon, hareketlilik ve morfolojide rol alan sinyalleme basamaklarını aktive ederek PH etki alanını içeren proteinleri AKT1 ve PDPK1 dahil olmak üzere membrana dahil ederek önemli bir rol oynamaktadır. GPCR aktivasyonunu PIP3 üretimine bağlar. Bağışıklık, inflamatuvar ve allerjik cevaplarla ilgilidir. Lökosit kemotaksisini inflamatuvar bölgelere ve kemoatraktan ajanlara cevap olarak modüle eder. PIP3'ün mekansal birikimini düzenleyerek ve F-aktin oluşumu ve integrine dayalı yapışmanın düzenlenmesiyle lökosit polarizasyonu ve göçünü kontrol edebilir. Dendritik hücrelerin motilitesini kontrol eder. PIK3CD ile birlikte, doğal öldürücü (NK) hücre gelişimi ve inflamasyon bölgelerine doğru göç olayında yer alır. T lenfosit göçüne katılır. T-lenfosit çoğalmasını ve sitokin üretimini düzenler. PIK3CD ile birlikte T-lenfosit gelişimine katılır. B-lenfosit gelişimi ve sinyallemesi için gereklidir. PIK3CD ile birlikte nötrofil solunum patlamasına katılır. PIK3CD ile birlikte nötrofil kemotaksis ve ekstrasvazasyon da yer alır. PIK3CB ile birlikte trombosit agregasyonu ve trombozu teşvik eder. Bir lipid kinaz aktivitesinden bağımsız mekanizma yoluyla P2Y12'nin trombositlerde alfa-IIb/beta-3 integrinleri (ITGA2B/ITGB3) yapışkan işlevini düzenler. Trombosit agregasyonunda ayrıca bir lipid kinaz aktivitesine bağlı fonksiyona da sahip olabilir. Endotel öncü hücre göçüyle ilgilidir. Kalp kontraktilitesinin negatif düzenleyicisidir. Protein kinaz A (PKA) ve PDE3B aktivasyonunu demirleyerek, cAMP düzeylerini düşürerek kardiyak kasılmayı modüle eder. (Wilson ve diğ. 2011). ADRBK1'e bağlanarak beta-adrenerjik reseptör içe alımını teşvik ederek ve kas dışındaki tropomyosin fosforilasyonu ile kardiyak kontraksiyonu düzenler (Naga Prasad ve diğ. 2005). Serin/treonin protein kinaz aktivitesine de sahiptir: beta-adrenerjik reseptör endositozu için lipid ve protein kinaz aktiviteleri gereklidir. Ayrıca kardiyak kontraktiliteyi modüle etmede bir iskele rolüne sahip olabilir. Patolojik stres altında kalp hipertrofisine katkıda bulunur. PDE3B'nin aynı anda RAPGEF3 ve PIK3R6'ye bağlanması, PI3K gamma kompleksinin RAPGEF3 tarafından aktive edildiği ve anjiyogenezde rol aldığı bir sinyalleme kompleksinde toplanır. PI3-kinazlar fosfoinositidlerin inositol halkasının 3'OH'ini fosforile edebilen bir lipid kinazlar ailesidir. Çoğalma ve hayatta kalma gibi çeşitli hücre fonksiyonlarının koordinasyonundan sorumludurlar.

Proteolipid Protein (Miyelin) 1 (PLP1)

Bu gen, merkezi sinir sisteminde ana miyelin proteini olan bir transmembran proteolipid proteini kodlar. Bu protein, myelin tabakasının sıkılaştırılması ve stabilizasyonunda ve korunmasında rol oynar ve oligodendrosit gelişmesi ve aksonal sağlık bakımından da oldukça önemlidir. Bu gende gerçekleşen mutasyonlar X-bağılı Pelizaeus-Merzbacher ve spastik parapleji tip 2 hastalıklarına yol açmaktadır. DISEASE veri bankasında bu protein ile ilişkili olarak bildirilen hastalıklar şunlardır: Pelizaeus-Merzbacher hastalığı, Parapleji, Multipl skleroz ve Melankoli. Folch-Lees protein olarak da bilinen PLP, olağandışı bir özellik olan organik çözücülerde çözünebilme özelliğine sahiptir. Moleküler ağırlığı yaklaşık 30,000'dir. Evrim sırasında güçlü korunan amino asit dizisi, zarı 4 kez geçen domaini PLP'yi 4 geçişli proteinlerden biri yapar. PLP proteininin MSS'inde PLP'den daha az bulunan DM20 izoformu mevcuttur. DM20 PLP ile benzer fiziksel özelliklere sahiptir ve hücre içi etki alanı 35 amino asitlik bir fark dışında, sekans açısından özdeştir. DM20 embriyonik gelişim aşamasında oligodendrositlerde PLP'den daha önce görülür. Bu miyelin yapısal rolüne ek oligodendrosit göç ve farklılaşmasında önemli bir rol olabileceğini düşünülmektedir. PLP/DM20'nin bir gözenek oluşturucu polipeptidi kodlayan genden evrimleşmiş olması, onun miyelin iyon hareketine dahil olabileceği hipotezine destek veriyor. PLP/DM20 önemli fonksiyonlara sahiptir ancak elzem değildir. PLP ile ilgili beklenenin aksine PLP/DM20 nakavt farede ilk miyelin katman oluşumu nispeten normaldir. Bu başka proteinlerin yada lipidlerin katmanların yapışmasına katkı sağladığını düşündürebilir. Diğer traftan yapılan çalışmalar PLP'nin muhtemelen sıkıştırıldıktan sonra "fermuar-benzeri" bir yapı oluşturarak, miyelin stabilitesini arttırmakta olduğunu düşündürmektedir. Bundan başka, PLP/DM20 knockout farelerde önemli aksonal dejenerasyon görülür, miyelin PLP/DM20 yokluğunda oluşabilirken, PLP / DM20 yoksun CNS miyelin Normal aksonal fonksiyonu sürdürmez. PLP/DM20 ekspresyonu en fazla MSS oligodendrositlerinde iken, PLP/DM20 mRNA'sı ÇSS schwann hücrelerinde de ifade edilir ki küçük miktarlarda proteinin burada da sentezlendiğini göstermektedir. MSS ve ÇSSinde ekspresyonuna ek olarak DM20'nin kalp ve timustada eksprese edilmesi kompakt miyelin oluşumuna ek olarak başka özel bir görevinin olduğunu düşündürmektedir.

Periferik Myelin Proteini 22 (PMP22)

Bu gen, periferik sinir sisteminde miyelinin önemli bir bileşenini oluşturan bir integral zar proteinini kodlar. Bu genin çeşitli mutasyonları, charcot-marie-diş hastalığı Tip 1A, dejerine-sottas sendromu ve felçlere maruz kalmış kalıtsal nöropati nedenleridir. Bu genin önemli bir paralogu EMP2'dir. Büyüme düzenlemesine ve periferik sinir sistemindeki miyelinizasyona karışabilir (Guo ve diğ. 2014). P0 glikoproteine ek olarak, kompakt miyelini toplam proteinin en az % 5'ini çevresel miyelin proteini-22 (PMP-22) adı verilen 22 kDa'luk bir protein içerir. P0'a benzer olarak N-glikosillenir. Ancak sinir sistemine özel P0'ın aksine PMP-22 pekçok dokuda ifade edilir.

Prostaglandin D2 Reseptör (PTGDR)

Bu gen, GPCR süper ailesinin bir üyesini kodlar. Reseptörler, hücre dışı ipuçlarına cevap veren ve hücre içi sinyal iletim yollarını aktive eden, transmembran zar proteinleridir. Bu proteinin, astımdaki alerjik iltihaplanma ve alerjik hava yolu inflamasyonunun bir aracısı olan prostaglandin D2 için bir reseptör olduğu rapor edilmiştir (Oguma ve diğ. 2004). İlgili yolları arasında peptid ligand-bağlama reseptörleri ve prostaglandin sentezi ve düzenlemesi bulunur. GPCR aktivitesi ve prostaglandin D reseptörü aktivitesi bulunur. Bu genin önemli bir paralogu PTGER2'dir. Prostaglandin D2 (PGD2) reseptörüdür. Bu reseptörün aktivitesi esas olarak adenilat siklazı uyaran G(s) proteinlerinin aracılık ettiği hücre içi cAMP'nin artmasına neden olur. Aynı zamanda, inositol 1,4,5-trisfosfat oluşmadan, bir kalsiyum mobilizasyonu da gözlemlenir. Prostanoid reseptörler, prostaglandin (PG) D2, PGE2, PGF2alfa, PGH2, prostasiklin (PGI2) ve tromboksan A2 endojen ligandları tarafından aktive edilir. Siklooksigenaz (COX), araşidonik asidi, diğer prostaglandinlerin sentezlendiği PGH2'ye çevirir.

V-Raf-1 Kemirgen Lösemi, Viral Onkogen Homologu1 (RAF1)

Bu gen, viral raf geninin (v-raf) hücresel homologudur. Aktive edildiğinde, hücresel RAF1 proteini, sırasıyla serin/treonin spesifik protein kinazları ERK1 ve ERK2'yi aktive etmek için fosforile edilen çift özgüllük protein kinazları MEK1 ve MEK2'yi aktive etmek için fosforilatlandırabilir. Aktive edilmiş ERK'ler, hücre fizyolojisinin pleiotropik efektörleridir ve hücre döngüsü, apoptoz, hücre

farklılaşması ve hücre göçü ile ilgili gen ekspresyonunun kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. Ras GTPazlar ile MAPK/ERK kaskadı arasında düzenleyici bir bağlantı olarak işlev gören serin/treonin protein kinazı ve bu kritik düzenleyici bağlantı proliferasyon, farklılaşma, apoptoz, hayatta kalma ve kanserojen dönüşümü içeren hücre kaderini belirleyen bir anahtar olarak işlev görür. RAF1 aktivasyonu, çift spesifik MAPK kinazlarının (MAP2K1/MEK1 ve MAP2K2/MEK2) ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazların (MAPK3/ERK1 ve MAPK1/ERK2) ardışık bir fosforilasyonunu içeren bir mitojen-aktifleştirilmiş protein kinaz (MAPK) kaskadını başlatır. RAF1'in fosforile biçimi Ser-75'te hücre ölümü BAD/Bcl2-antagonistini fosforile eder. Fosforilatlar adenilat siklazların (ADCY2, ADCY5 ve ADCY6) aktivasyonu ile sonuçlanır (Ding ve diğ. 2004). Fosfataz aktivitesinin inhibisyonuyla sonuçlanan PPP1R12A'yı fosforize eder. NFκB aktivasyonunu teşvik edebilir ve motilite (ROCK2), apoptoz (MAP3K5/ASK1 ve STK3/MST2), çoğalma ve anjiyogenez (RB1) ile ilgili sinyal yollarını inhibe edebilir. Ayrıca hücreleri, BCL2'ye bağlandığı ve hücre ölümü BAD/Bcl2-antagonistinin yerini alan mitokondriye translokasyon yapılarak apoptozdan koruyabilir (Jin 2005). Rho sinyalizasyonunu ve migrasyonunu düzenler ve normal yara iyileşmesi için gereklidir. Seçilen uyarılar, özellikle Fas uyarımı, patojen aracılı makrofaj apoptozu ve eritroid farklılaşması uyarınca kaspaz aktivasyonunu kısıtlar.

Sfingozin-1-Fosfat Reseptörü 1 (S1PR1)

Bu gen tarafından kodlanan protein, yapısal olarak G proteinine bağlı reseptörlere benzer ve endotel hücrelerinde yüksek seviyede eksprese edilir. Ligand sfingozin-1-fosfatı yüksek afinite ve yüksek özgüllük ile bağlar ve endotel hücrelerinin farklılaşmasını düzenleyen süreçlere dâhil olmasını sağlar (Hla ve Maciag 1990). Bu reseptörün aktivasyonu hücre-hücre yapışmasına neden olur. S1PR1 ile ilişkili hastalıklar arasında otoimmün ensefalit bulunur. G-proteine bağlı reseptör etkinliği ve sfingozin-1-fosfat reseptör aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu S1PR3'tür. Sinyal, RAC1, SRC, PTK2/FAK1 ve MAP kinazlarının aktivasyonuna yol açar. Aktif hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesindeki rolü ve muhtemelen sfingozin kinazın aktivitesini arttıran uyarılara yanıt olarak lamellipodin oluşumu yoluyla hücre göçünde önemli bir rol oynar. Normal embriyonik kalp gelişimi ve normal kardiyak morfogenez için gereklidir. Anjiyogenesis ve vasküler olgunlaşmanın düzenlenmesinde önemli bir rol oynar.

Timustan kan akışına ve periferik lenfoid organlara kadar olgun T hücrelerinin normal çıkışı için gereklidir. Osteoklast öncü hücrelerin migrasyonunda, kemik mineralizasyonunun düzenlenmesinde ve kemik homeostazında rol oynar. Sfingozin-1-fosfat (S1P) reseptörleri beş alt türe ayrılmış olan bir G-proteine bağlı reseptör grubudur; S1P1, S1P2, S1P3, S1P4 ve S1P5. Çok çeşitli dokularda ifade edilirler ve her alt tip farklı bir hücre özgüllüğü sergiler.

Sfingozin-1-Fosfat Reseptörü 3 (S1PR3)

Bu gen, G proteinine bağlı reseptörler olan EDG ailesinden bir üyeyi kodlar. Bu protein, sfingozin 1-fosfat için fonksiyonel bir reseptör olarak tanımlanmıştır ve muhtemelen anjiyojenezin ve vasküler endotel hücre fonksiyonunun düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır. İlgili yolları arasında peptid ligand-bağlama reseptörleri ve GPCR ile sinyal oluşturma bulunmaktadır. GPCR ve integrin bağlanma aktivitesi içerir. Bu genin önemli bir paralogu S1PR1'dir.

Süperoksitdismutaz 1, Çözülebilir (SOD1)

Bu gen tarafından kodlanan protein, bakır ve çinko iyonlarını bağlar ve vücudun serbest süperoksit radikallerini yok etmekten sorumlu olan iki izozimden biridir. Normal olarak hücrelerde üretilen ve biyolojik sistemlere toksik olan radikalleri yok eder. Kodlanmış izoenzim çözünür bir sitoplazmik protein olup, doğal olarak oluşan fakat zararlı süperoksit radikallerini moleküler oksijen ve hidrojen peroksit haline dönüştürmek için bir homodimer olarak işlev görür. Diğer izoenzim mitokondriyal bir proteindir. Bu gendeki mutasyonlar ailesel amiyotropik lateral sklerozun nedenleri olarak ilişkilendirilmiştir. SOD1 ile ilişkili hastalık amiyotrofik lateral skleroz 1 içerir. İlgili yolları arasında dopamin metabolizması ve trombosit aktivasyonu, sinyalizasyon ve agregasyon vardır. Protein homodimerizasyon aktivitesine sahiptir. Bu genin önemli bir paralogu CCS'dir.

Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3 (STAT3)

Bu gen tarafından kodlanan protein, STAT protein ailesinin bir üyesidir. Sitokinler ve büyüme faktörlerine yanıt olarak, STAT ailesi üyeleri, reseptör ile ilişkili kinazlar tarafından fosforile edilir ve daha sonra, transkripsiyon aktivatörleri olarak hareket ettiği hücre çekirdeğine translokasyon yapan homo- veya heterodimerler oluştururlar. STAT'lar, birçok sitokin reseptörü için sinyal iletim

mekanizmasının temeli olan JAK-STAT sinyalleme kaskadının bir parçasını oluşturan transkripsiyon faktörü ailesidir. STAT'lar, JAK'lar tarafından fosforilasyon ile aktive edilir. Bu protein, çeşitli sitokinlere ve IFN'ler, EGF, IL5, IL6, HGF, LIF ve BMP2'yi içeren büyüme faktörlerine cevaben fosforilasyon yoluyla aktive edilir. Bu protein, hücre uyarılarına tepki olarak çeşitli genlerin ekspresyonuna aracılık eder ve böylece hücre büyümesi ve apoptoz gibi birçok hücrel işlemde anahtar rol oynar. Küçük GTPaz Rac1'in bu proteinin aktivitesini bağladığı ve düzenlediği gösterilmiştir. PIAS3 proteini, bu proteinin spesifik bir önleyicisidir. Aktive edildiğinde, NCOA1 veya MED1 gibi koaktivatörleri hedef genin promotör bölgesine dâhil eder (Saxena ve diğ. 2007). Aktive edilmiş FGFR1, FGFR2, FGFR3 ve FGFR4'e hücrel yanıtlara aracılık edebilir. Çeşitli akut faz protein genlerinin hızlandırıcılarında tanımlanan IL6 tepki veren maddeleri bağlar. IL31 ile IL31RA aracılığıyla aktive olur. CC1D gibi CC1 için G1'den S'ye geçiş için anahtar genlerin ekspresyonunu indükleyerek hücre döngüsü düzenlemesine dâhil olur (Saxena ve diğ. 2007). LEP'in melanokortin üretimi, vücut enerjisi homeostazı ve emzirme üzerindeki etkilerini aracılık eder. LEP aktivasyonu altında BIRC5 ekspresyonunu transkripsiyon haline getirerek apoptotik bir rol oynayabilir (Jiang ve diğ. 2007). Multipl skleroz, IL6/STAT3 yolağının patogenezinde kritik bir rol oynadığı immün aracılı kronik bir merkezi sinir sistemi hastalığıdır. IL6/STAT3 yolağının düzenlenmesinde oluşan hata T hücre yanıtını uyararak merkezi sinir sisteminde otoimmünite gelişimine neden olur Yapılan bir çalışmada IL6^{-/-} ve STAT3^{-/-} farelerin deneysel MS hastalığı oluşumuna dirençli olduğu saptanmıştır (Yang ve diğ. 2014).

Transforme Edici büyüme faktörü beta 1 (TGFB1)

Bu gen, proteinlerin TGFB süper ailesinin salgılanmış bir ligandını kodlar. Bu ailenin ligandları, çeşitli ifade eden TGFB reseptörlerini bağlar ve gen ekspresyonunu düzenleyen SMAD ailesindeki transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açar. Kodlanmış preproprotein, 'latency-associated peptide' (LAP) ve bir olgun peptit üretmek üzere proteolitik olarak işlenir ve olgun bir peptid homodimeri, bir LAP homodimeri ve latent bir TGFB bağlayıcı proteinden oluşan latent bir formda bulunur. Sadece olgun peptit homodimerden oluşan aktif bir formda bulunur. Olgun peptid ayrıca diğer TGFB ailesi üyeleri ile heterodimerler oluşturabilir. Bu kodlanmış protein, hücre proliferasyonunu, farklılaşmasını ve

büyümesini düzenler ve IFNG ve TNF α da dâhil olmak üzere diğer büyüme faktörlerinin ekspresyonunu ve aktivasyonunu modüle edebilir. Bu genin sıklıkla tümör hücrelerinde ekspresyonu artar ve bu gendeki mutasyonlar Camurati-Engelmann hastalığına neden olur. TGFB1 ile ilişkili hastalıklar arasında Camurati-Engelmann Hastalığı ve Kistik Fibroz bulunmaktadır. Protein homodimerizasyon aktivitesine sahiptir. Bu genin önemli bir paralogu TGFB3'dür. Birçok hücre TGFB1'i sentezler ve bunun için spesifik reseptörlere sahiptir. Pek çok büyüme faktörünü olumlu ve olumsuz olarak düzenler. Osteoblastik kemik oluşumunun güçlü bir uyarıcıdır ve osteoblastlarda kemotaks, proliferasyon ve farklılaşmaya neden olur. Th17 veya Treg farklılaşmasını konsantrasyona bağlı bir şekilde teşvik edebilir. Yüksek konsantrasyonlarda, RORC'nin FOXP3 aracılı inhibisyonu ve IL17 ekspresyonunun baskılayarak Treg hücresi gelişimine katkıda bulunur. IL6 ve IL21 ile birlikte düşük konsantrasyonlarda, IL17 ve IL23 reseptörlerinin ekspresyonuna yol açar ve Th17 hücrelerine farklılaşmayı destekler. Fosforilasyonunu ve akabinde çekirdeğe translokasyonu indükleyerek SMAD2/3 aktivasyonuna aracılık eder. Çeşitli hücre tiplerinde epitel-mezenkimal geçiş (EMT) ve hücre göçü oluşturabilir (Hwangbo ve diğ. 2016).

Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta 2 (TGFB2)

Bu gen, proteinlerin TGFB süper ailesinden salgılanmış bir ligandını kodlar. Bu ailenin ligandları, çeşitli ifade eden TGFB reseptörlerini bağlar ve gen ekspresyonunu düzenleyen SMAD ailesindeki transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açar. TGFB/SMAD yolağının bozulması çeşitli insan kanserleri ile ilişkilendirilmiştir. Bu geni içeren bir kromozomal translokasyon Peters'in anomalisi, gözde doğuştan gelen bir defekt ile ilişkilidir. Bu gen, benzer proteolitik işleme tabi tutulan çoklu izoformları kodlar. Protein homodimerizasyon aktivitesine sahiptir. Bu genin önemli bir paralogu TGFB3'dür. TGFB2, IL2'ye bağımlı T hücresi büyümesinde baskılayıcı etkilere sahiptir.

Tümör Nekroz Faktörü Reseptörü Süper Ailesi, 1A (TNFRSF1A)

Bu gen tarafından kodlanan protein, TNF reseptör süper ailesinin bir üyesidir. Bu protein, TNF α için en önemli reseptörlerden biridir. Bu reseptör NFKB'yi aktive edebilir, apoptozise aracılık edebilir ve inflamasyonun regülatörü olarak işlev görebilir. Antiapoptotik protein BCL2'ye bağlı athanogene 4

(BAG4/SODD) ve adaptör proteinleri TRADD ve TRAF2'nin bu reseptör ile etkileşime girdiği gösterilmiştir ve böylece reseptörün aracılık ettiği sinyal transdüksiyonunda düzenleyici rol oynar. Bu reseptörün hücre dışı alanlarının Germline mutasyonları otozomal dominant periodik ateş sendromuyla ilişkili bulunmuştur. TNFRSF1A ile ilişkili hastalıklar periyodik ateş ve multipl skleroz içerir. Protein kompleksi bağlanması ve tümör nekroz faktörü ile aktive olan reseptör aktivitesi bulunur. Bu genin önemli bir paralogu TNFRSF25'dir. TNFSF2/TNF α ve homotrimerik TNFSF1/LTA için reseptördür. Adaptör molekülü FADD, aktive edilmiş reseptöre kaspaz-8'i getirir. Ortaya çıkan ölüm indükleyici sinyal kompleksi (DISC), apoptoza aracılık eden kaspaz-8 proteolitik aktivasyonunu gerçekleştirir.

Tümör Nekroz Faktörü Reseptörü Süper Ailesi, 1B (TNFRSF1B)

Bu gen tarafından kodlanan protein, TNF-reseptör süper ailesinin bir üyesidir. Bu protein ve TNFR1, E3 ubiquitin ligaz aktivitesine sahip iki anti-apoptotik proteinin c-IAP1 ve c-IAP2 alımına aracılık eden bir heterokompleks oluşturmaktadır. TNFR sinyallemede IAP'lerin fonksiyonu bilinmemekle birlikte, c-IAP1'in anti-apoptotik sinyallere aracılık eden TNFR ilişkili faktör 2'nin yer değiştirmesi ve bozunması ile TNF'nin indüklediği apoptozu güçlendirdiği düşünülmektedir. Ubiquitin protein ligaz bağlanması ve tümör nekroz faktörü ile aktive edilen reseptör aktivitesi bulunur. Bu genin önemli bir paralogu TNFRSF11A'dır. TNFSF2/TNF α için yüksek afiniteye ve homotrimerik TNFSF1/LTA için yaklaşık olarak 5 kat daha düşük afiniteye sahip reseptördür. TRAF1/TRAF2 kompleksi, BIRC2 ve BIRC3 apoptoz baskılayıcılarını TNFRSF1B/TNFR2'ye dâhil eder. Bu reseptör, TNF α 'nın metabolik etkilerinin çoğuna aracılık eder. İzoform 2, biyolojik aktivitesini antagonize ederek TNF α fonksiyonunu düzenlediğini gösteren TNF α kaynaklı apoptozu bloke eder.

Tümör Nekroz Faktörü α (TNF α)

Bu gen, tümör nekroz faktörü α (TNF α) süper ailesine ait olan çok fonksiyonlu bir proinflamatuvar sitokin kodlar. Bu sitokin özellikle makrofajlar tarafından salgılanır. TNFRSF1A/TNFR1 ve TNFRSF1B/TNFR2 reseptörlerine bağlanarak işlevlerini gerçekleştirir. Bu sitokin hücre çoğalması, farklılaşma, apoptoz, lipid metabolizması ve pıhtılaşma dahil çok geniş bir yelpazede biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde yer almaktadır. Bu sitokin, otoimmün hastalıklar, insülin

direnci ve kanser gibi hastalıklarda çeşitli rol oynadığı gösterilmiştir. Fare “knockout” çalışmaları bu sitokinin nöro-koruyucu işlevi olduğunu düşündürmektedir. DISEASE veri bankasında bu protein ile ilişkili olarak bildirilen hastalıklar şunlardır: Romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalığı, aşırı duyarlılık reaksiyonu tip II hastalığı, kanser, sıtma, bağ dokusu hastalığı, ankilozan spondilit, psoriatik artrit, sedef hastalığı, tüberküloz, vasküler hastalık, multipl skleroz ve peritonit astım’dır.

Tiroid Sitümile Edici Hormon Reseptörü (TSHR)

Bu gen tarafından kodlanan protein bir membran proteini ve tiroid hücre metabolizmasının önemli bir kontrolüdür. Kodlanmış protein tirostropin ve tirostimulin için bir reseptördür ve etkinliği adenilat siklaz aracılıdır. Bu gendeki bozukluklar, çeşitli hipertiroidi nedenlerinden biridir. Bu gen için farklı izoformları kodlayan üç transkript varyantı bulunmuştur. G-protein bağlı reseptör aktivitesi ve tiroid uyarıcı hormon reseptörü aktivitesi bulunur. Bu genin önemli bir paralogu LHCGR'dir. Tiroid hücre metabolizmasının kontrolünde merkezi bir rol oynar. Bu reseptörün aktivitesine, adenilat siklazı aktive eden G proteinleri aracılık etmektedir. Tirostimulin (GPA2 + GPB5) için bir reseptör görevi görür.

Vasküler Hücre Adezyon Molekülü 1 (VCAM1)

Bu gen, Ig süper ailesinin bir üyesidir ve sitokinle aktive edilmiş endotel tarafından eksprese edilen bir hücre yüzeyi sialoglikoproteini kodlar. Bu tip I zar proteini, lökosit-endotel hücre adezyonuna ve sinyal iletimine aracılık eder ve arteroskleroz ve romatoid artrit gelişiminde rol oynayabilir. İntegrin bağlama ve birincil amin oksidaz aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu SIGLEC1'dir. Hücre hücre tanımada önemlidir. Lökosit-endotel hücresi yapışmasında işlev görür. Lökositler üzerinde integrin alfa-4/beta-1 (ITGA4/ITGB1) ile etkileşir ve hem yapışma hem de sinyal iletimine aracılık eder. VCAM1/ITGA4/ITGB1 etkileşimi hem bağışıklık yanıtlarında hem de inflamasyon bölgelerine lökosit göçünde patofizyolojik bir rol oynayabilir.

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü A (VEGFA)

Bu gen, PDGF/VEGF büyüme faktörü ailesinin bir üyesidir. Bir disülfid bağlantılı homodimer olarak var olan bir heparin bağlayıcı proteini kodlar. Bu

büyüme faktörü vasküler endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu uyandır ve hem fizyolojik hem de patolojik anjiyogenez için gereklidir. Bu gen birçok bilinen tümörde ekspresyonu artar ve ekspresyonu tümör evresi ve progresyon ile korele edilir. Bu proteinin yüksek seviyeleri, aynı zamanda Crow-Fukase sendromu olarak da bilinen POEMS sendromlu hastalarda bulunur. Bu genin alelik varyantları, diyabet 1'in (MVCD1) mikrovasküler komplikasyonları ve ateroskleroz ile ilişkilendirilmiştir. Anjiogenezis, vaskülogenezis ve endotel hücre büyümesinde aktif olan büyüme faktörüdür. Endotel hücre proliferasyonunu indükler, hücre göçünü artırır, apoptozu inhibe eder ve kan damarlarının permeabilizasyonunu başlatır. FLT1/VEGFR1 ve KDR/VEGFR2 reseptörlerini, heparan sülfat ve heparini birbirine bağlar. NRP1/Neuropilin-1 izoformları VEGF-165 ve VEGF-145'e bağlar. İzoform VEGF165B, KDR'ye bağlanır ancak sinyal yollarını etkinleştirmez, anjiyogenezi etkinleştirmez ve tümör büyümesini inhibe eder.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gurbet ÇELİK TURGUT

Doğum Yeri ve Tarihi : ÇORUM/05.10.1986

Lisans Üniversite : Pamukkale Üniversitesi

Y. Lisans Üniversite (varsa) : Pamukkale Üniversitesi

Elektronik posta :gurbettcelikk@gmail.com

İletişim Adresi :Bağbaşı/ DENİZLİ

Yayın Listesi :

• Celik-Turgut, G., Doyduk, D., Yildirim, Y., Yavuz, S., Akdemir, A., Disli, A., Sen, A., ‘Computer design, synthesis, and bioactivity analyses of drugs like FTY720 used in the treatment of Multiple Sclerosis’, *Bioorganic&Medicinal Chemistry*, 25(2), 483-495, (2017).

• Özakin, S., Davis, R.W., Umile, T.P., Pirincioglu, N., Kizil, M., Celik, G., Sen, A., Minbirole, K.P.C., İnce, E., ‘The isolation of tetrangomycin from terrestrial Streptomyces sp. CAH29: evaluation of antioxidant, anticancer, and anti-MRSA activity’, *Medicinal Chemistry Research*, 25(12), 2872—2881, (2016).

• Ozgun-Acar, O., Celik-Turgut, G., Gazioglu, I., Kolak, U., Ozbal, S., Ergur, B., Arslan, S., Sen, A., Topcu, G., ‘Capparis ovata treatment suppresses inflammatory cytokine expression and ameliorates experimental allergic encephalomyelitis model of multiple sclerosis in C57BL/6 mice’, *Journal of Neuroimmunology*, 298, 106-16, (2016).

• Semiz, A., Çelik-Turgut, G., Semiz, G., Özgün, Ö., Şen, A. ‘Association between herbivore stress and glutathione S-transferase expression in Pinus brutia Ten.’, *Cell Mol. Biol.*, 31;62(3), 89-94, (2016).

• Semiz, G., Çelik, G., Gönen, E., Semiz, A., ‘Essential oil composition, antioxidant activity and phenolic content of endemic Teucrium alyssifolium Staph. (Lamiaceae)’, *Natural Product Research*, 30(19), 2225-9, (2016).

• Semiz, A., Celik-Turgut, G., Karakurt, S., Akca, H., Arslan S., Adalı, O., Sen, A, ‘In vivo examination of the effects of hydroxycinnamic acid on

xenobiotic metabolizing and antioxidant enzymes’, *Archives of Biological Sciences*, DOI: 10.2298/ABS160208083S, (2016).

- Karakurt, S., Semiz, A., Celik, G., Gencler-Özkan, A.M., Sen, A. ve Adalı, O. ‘Contribution of Ellagic Acid on the Antioxidant Potential of Medicinal Plant *Epilobium hirsutum*’, *Nutrition and Cancer: An International Journal*, 68(1), 173-83, (2016).

- Sen, A., Terzioğlu, G., Atmaca, P., Celik G., Ozgun, O., Arslan, S., ‘Modulatory actions of o-coumaric acid on carcinogenactivating cytochrome P450 isozymes and the potential for drug interactions in human hepatocarcinoma cells’, *Pharmaceutical Biology*, 53(9), 1391-8, (2015).

- Celik, G., Semiz, A., Karakurt, S., Arslan, S., Adali, O., ve Sen, A., ‘Inhibitory action of *Epilobium hirsutum* extract and its constituent ellagic acid on drug-metabolizing enzymes’ *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 41(2), 109-16, (2016).

- Celik, G., Akca, H., Sen, A., ‘Investigation of aromatase inhibitor activities in several dietary vegetables on human non–small cell lung cancer cell lines’, *Turk. J. Biochem.*, 38(2), 207–217, (2013).

- Celik, G., Semiz, A., Karakurt, S., Arslan, S., Adali, O., ve Sen, A., ‘A Comparative Study for the Evaluation of Two Doses of Ellagic Acid on Hepatic Drug Metabolizing and Antioxidant Enzymes in the Rat’, *Biomed Research International*, 358945, (2013).

- Karakurt, S., Semiz, A., Celik, G., Gencler-Özkan, A.M., Sen, A., Adalı, O., ‘*Epilobium hirsutum* alters xenobiotic metabolizing CYP1A1, CYP2E1, NQO1 and GPx activities, mRNA and protein levels in rats’, *Pharm. Biol.*, 51(5), 650–658, (2013).

- Arslan, S., Ozgun, O., Celik, G., Semiz, A., Dusen, O., Mammadov, R., ve Sen, A., ‘Effects of *Cyclamen trochopteranthum* on Hepatic Drug Metabolizing Enzymes’, *Arch. Biol. Sci.*, 63(3), 545-555, (2011).

Konferans listesi :

- Semiz, A., Celik-Turgut, G., Semiz, G., Kale E., Sen, A., ‘In vitro investigation of anti-cancer effect of *Pinus nigra* Arnold subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe essential oil in neuroblastoma cells (SH-SY5Y)’, *FEBS Journal*, September 03-08, page 257, (P-05.02.2-025), 2016.

- Bozagac, N., Celik-Turgut, G., Semiz, G., Semiz, A., Sen, A., ‘Initial screening the anti-cancer effect of *Vitexagnus castus* in neuroblastoma cell lines’, *FEBS Journal*, September 03-08, page 255, (P-05.02.2-019), 2016.

- Celik Turgut, G., Doyduk, D., Sen, A., Yıldırım, Y., ‘F3-A13h, Novel FTY720 Derivative, Activates cAMP-Dependent Signalling Pathway in SK-N-SH Cell Line’, *FEBS Journal*, September 03-08, page 268, (P-09.02.2-012), 2016.

- Sen, A., Ozgun-Acar, O., Celik-Turgut, G., Arslan, S., Ozbal, S., Ergür, B. U. ‘Caper (*Capparis ovata*) Water Extract As An Efficient Preparation For

Treatment of Multiple Sclerosis', International Society of Antioxidant in Nutrition and Health (ISANH), Dubai, 2016.

- Ozgun O., Celik Turgut G., Gazioglu I., Kolak U., Ozbal S., Ergür B.U., Arslan S., Topcu G., Sen A., 'Treatment of multiple sclerosis with Capparis ovata water extract (MSCov) implicating anti-neuroinflammatory and myelinating mechanism', 4th International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey. 27-29 November, Izmir Institute of Technology; page 62 (P20), 2015.

- Ozgun O., Celik Turgut G., Gazioglu I., Kolak U., Arslan S., Topcu G., Sen A., 'Anti-Neuroinflammatory Effect of Ursolic Acid May Find Application in Treatment for Multiple Sclerosis', 4th International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey. 27-29 November, Izmir Institute of Technology; page 57 (P15), 2015.

- Bozagac N., Kocaoglan D., Celik Tugut G., Ozgun O., Sen A., 'No Obvious Interaction Between Cytochrome P4501A1 and Hepatitis BX', 4th International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey. 27-29 November, Izmir Institute of Technology; page 56 (P14), 2015.

- Celik Turgut G., Ozgun O., Gazioglu I., Kolak U., Arslan S., Topcu G., Sen A., 'Comparative Study of the Anti-neuroinflammatory Activities of Ethyl Acetate and Butanolic Subextracts of the Water Extract of Capparis Ovata (MSCov)', 4th International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey. 27-29 November, Izmir Institute of Technology; page 51 (P9), 2015.

- Ayar B., Celik Turgut G., Ozgun O., Kale E., Yilmaz A., Gazioglu I., Topcu G., Sen A., 'Investigation of The in vitro Anticancer Activities of The Diterpenoid Alysine B Isolated from Teucrium Alyssifolium', 4th International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey. 27-29 November, Izmir Institute of Technology; page 49 (P7), 2015.

- Ayar B., Ozgun O., Celik Turgut G., Yilmaz A., Gazioglu I., Topcu G., Sen A., 'Evaluation Of Antidiabetic Potential of Circillineol Using B-TC-6, 3T3-L1, C2C12 Chang Liver and Caco-2 Cell Lines', 4th International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey. November 2015, Izmir Institute of Technology; page 45 (P3), 2015.

- Ozgun O., Celik Turgut G., Gazioglu I., Semiz A., Kolak U., Topcu G., Sen A., 'Investigation of in vitro Impact of Oleonic acid on Neuroblastoma Cells (SH-SY5Y)', 4th International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey. November 2015, Izmir Institute of Technology; page 45 (P3), 2015.

- Ozgun, O., Celik, G., Gazioglu, I., Kolak, U., Ozbal, S., Ergur, B. U., Arslan, S., Topcu, G. Sen, A., 'Capparis ovata Ameliorates Experimental Allergic Encephalomyelitis Model of Multiple Sclerosis in C57BL/6 Mice', ECTRIMS Barcelona, 2015.

- Celik G., Semiz G., Gönen E. and Semiz A., 'Antioxidant activity and total phenolic content of Teucrium alyssifolium Staph. (Lamiaceae)', Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB) 01-05 June 2015, Bakü, Azerbaijan, PP-13, 2015.

- Sen A., Topcu G., Ayar B., Yılmaz A., Celik G., Gazioglu I., Ozgun O., ‘Investigation of the In Vitro Anti-diabetic Effects of the Diterpenoid Alysine A and Alysine B Compounds Isolated from *Teucrium alyssifolium*’, Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB) 01-05 June 2015, Bakü, Azerbaijan, PP-06, 2015.
- Sisman B., Semiz A., Celik G., Gönen E., Semiz G., ‘Determination of total glutathione-S-transferase enzyme activity in *Pinus brutia* needles and their roles in *Thaumetopoea wilkinsoni* attack’, III. International Congress of the Molecular Biology Association; Sep 10-12 Izmir Institute of Technology; page 117 (P86), 2014.
- Sen A., Topcu G., Ozgun O., Kolak U., Hacbekiroglu I., Celik G., Arslan S., ‘Anti-Neuroinflammatory Effect of Butanolic Fraction of *Capparis ovata* Water Extract Used as an Alternative and Complementary Treatment For Multiple Sclerosis’, 12th International Congress of J Neuroimmun 275(1-2): 172-173. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2014.08.464 9-13 November., Mainz, Germany, 2014.
- Celik G., Ozgun O., Hacbekiroglu I., Arslan Ş., Topçu G., Sen A., ‘Effect of *Capparis ovata* Water Extract on the Lipid Metabolism Used as an Alternative and Complementary Treatment for Multiple Sclerosis’, III. International Congress of the Molecular Biology Association; Sep 10-12 Izmir Institute of Technology; page 114 (P83), 2014.
- Ozgun O., Celik G., Arslan Ş., Sen A., ‘*Capparis ovata* water extract (MSCov) for the potential treatment of multiple sclerosis without drug interaction: molecular evidences’, FEBS Journal 281: Suppl. 1, pp. 104, 2014.
- Celik G., Ozgun O., Arslan Ş., Sen A., ‘Toxicogenomic analysis of *Capparis ovata* water extract (MSCov)’, FEBS Journal 281: Suppl. 1, pp. 184, 2014.
- Sen, A., Celik, G., Ozgun, O., Arslan, Ş., ‘Alterations of Gene Expression at the Peak Level in the Experimental Allergic Encephalomyelitis’, European Society of Human Genetics – ESHG. Volume 22 Suppl pp 183 May 31-June3, Milan, Italy, 2014.
- Celik G., Ozgun O., Sen A. Effects of *Capparis Ovata* on Apoptotic and Necrotic, 2nd International Symposium ‘Secondary metabolites: chemistry, biology and biotechnology’, 19-23 May. Russia, page 70, 2014.
- Karakurt, S., Semiz, A., Celik, G., Gencler-Ozkan, A.M., Sen, A., and Adali, O., ‘Investigation of the effects of folk medicinal plant *Epilobium hirsutum* L. on carcinogen and drug metabolizing cytochrome P450 dependent and antioxidant enzymes. International symposium on medicinal and aromatic plants’, pp. 38 June 3-7 (Sözlü Bildiri), 2013.
- Karakurt, S., Semiz A., Celik G., Gencler Özkan AM., Sen A., Adalı O., ‘Ellajik Asitin *Epilobium Hirsutum* L.’un Antikarsinojen ve Antioksidan Potansiyeline Katkısı’, 25. Ulusal Biyokimya Kongresi, 03-07 Eylül, İzmir 38(1), sözlü sunum, 2013.
- Şen A. ve Çelik G. ‘Nar Suyunun Biyolojik Özellikleri’, 3. Merkezefendi Tıp Günleri Bildiri Kitabı (Sözlü Bildiri), 2012.

- Arslan S., Sen A., Ozgun O., Celik G., Atmaca P., Terzioğlu G., ‘Differential Apoptotic Responses Towards Bee Venom in Human Cancer Cell Lines’, The Fifth Saudi Science Conference, 2012.
- Karakurt, S., Semiz, A., Celik, G., Gencler-Ozkan, A.M., Sen, A., and Adali, O., ‘In Vivo Effect of Epilobium hirsutum on Xenobiotic metabolizing CYP2E1, CYP1A1, Glutathione Peroxidase and NAD(P)H:Quinone Oxidoreductase 1 Enzymes in Rat Liver’, 37th FEBS Journal 279: Suppl. 1, pp. 90, Sep 04-09, 2012.
- Karakurt, S., Celik, G., Semiz, A., Arslan, S., Akca, H., Gencler-Ozkan, A.M., Sen, A., and Adali, O., ‘Molecular Studies on Inhibitory Effects of Epilobium hirsutum L. on Drug Metabolizing CYP2B1, CYP2C1, CYP2D2 and CYP3A4 Enzymes in Rat Liver Microsomes’, 19th International Symposium on Microsomes and Drug Oxidations, 12th European Regional ISSX Meeting, June 17-21, Meeting Proceedings and Abstracts, pp. 96 (P31), 2012.
- Arslan, Ş., Atmaca, P., Terzioğlu, G., Özgün, O., Celik G., Şen A., ‘Drug İnteraction and Carcinogen Activating Potential of O-coumaric acid’, 12th European Regional ISSX Meeting, pp.99-100, 2012.
- Arslan, Ş., Atmaca, P., Terzioğlu, G., Özgün, Ö., Çelik, G., Şen, A., ‘o-Kumarik Asit’in Prokarsinogen/Karsinogen ve İlaç Metabolizması Üzerine Etkileri’, 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 03-07 Eylül, İzmir, syf: 390-391 (PA-053), 2012.
- Çelik, G., Semiz, A., Karakurt, S., Arslan, Ş., Adalı, O., Şen, A. 2-‘Hidroksisanimik Asitin Faz I Enzimleri Üzerine Etkileri’, 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 03-07 Eylül, İzmir, syf: 379-380 (PA-041), 2012.
- Sever, M., Karakurt, S., Semiz, A., Çelik, G., Gençler-Özkan, A. M., Şen, A., ve Adalı, O., ‘In Vivo Effect of Ellagic Acid on Antioxidant Enzyme Glutathione Peroxidase in Rat Liver’, 23. Ulusal Biyokimya Kongresi, 19 Kasım-2 Aralık, Adana, Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry], 36(1); syf: 78, 2011.
- Semiz, A., Celik, G., Karakurt, S., Arslan, S., Gencler-Ozkan, A. M., Adali, O., and Sen, A. ‘In vivo Effects of Epilobium hirsutum Extract on Different Glutathione Transferase Isozymes’, FEBS Journal 278: Suppl. 1, pp. 233, 2011.
- Sen, A., Celik, G., Semiz, A., Karakurt, S., and Adali, O., ‘Effects of Ellagic Acid on CYP2E1, CYP1A1, CYP1A2, NQO1 and GSTMu Enzymes in Rat’, FEBS Journal 278: Suppl. 1, pp. 241, 2011.
- Todurga, Z.G., Adali, O., Celik, G., Semiz, A., Karakurt, S., ve Sen, A. ‘Antioxidant Capacity of Epilobium hirsutum in Rats’, FEBS Journal 278: Suppl. 1, pp. 235, 2011.
- Ozyurt, R., Semiz, A., Celik, G., Karakurt, S., Arslan, S., Gencler-Ozkan, A.M., Adali, O., ve Sen, A., ‘Modulations of Drug Metabolizing Enzymes by in vivo Treatment of Epilobium hirsutum Extract in Rat’, FEBS Journal 278: Suppl. 1, pp. 225-226, 2011.

- Gul, O.A., Celik, G., Akca, H., Adalı, O., Sen, A., ‘Effect of ellagic acid on p53 and PTEN in various cell lines’, FEBS Journal 278: Suppl: 1 pp: 209-209, 2011.
- Yasar, I., Ozyurt, R., Todurga, Z.G., Celik, G., Arslan, S., Sen, A., ‘Diverse action of 5-aminosalicylic acid on cytochrome P450 expression in human cervical cancer cell line’, FEBS Journal 278: Suppl: 1 pp: 239-240, 2011.
- Sen A., Akca H., Celik, G., ‘Dietary Aromatase Inhibitors in Human Non-Small Cell Lung Cancer’, Drug Metabolism Reviews, 42: Suppl: 1 pp: 171, 2010.
- Celik, G., Semiz, A., Karakurt, S., Adalı, O., ve Şen, A., ‘Ellajik Asitin Faz I Enzimleri Üzerine Etkileri’, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran, Denizli, syf: 209-210 (PA045), 2010.
- Semiz, A., Karakurt, S., Celik, G., Gençler-Özkan, A. M., Adalı, O., ve Şen, A., ‘Sıçanlarda Glutasyon S-Transferazlar ve Antioksidan Enzimlerin Epilobium hirsutum Bitki Ekstraktları ile Değişimi’, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran, Denizli, syf: 203-204 (PA038), 2010.
- Ozgun, O., Celik, G., Sen, A., Arslan, S., ‘Akrilamidin İnsan Karaciğer Kanseri Hücre Hattında (HepG2) Sitokrom P4501A1, 1A2, 2E1 ve 3A4 mRNA Ekspresyon Düzeylerinde Olan Etkisi’, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran, Denizli, Sayfa: 214 (PA048), 2010.